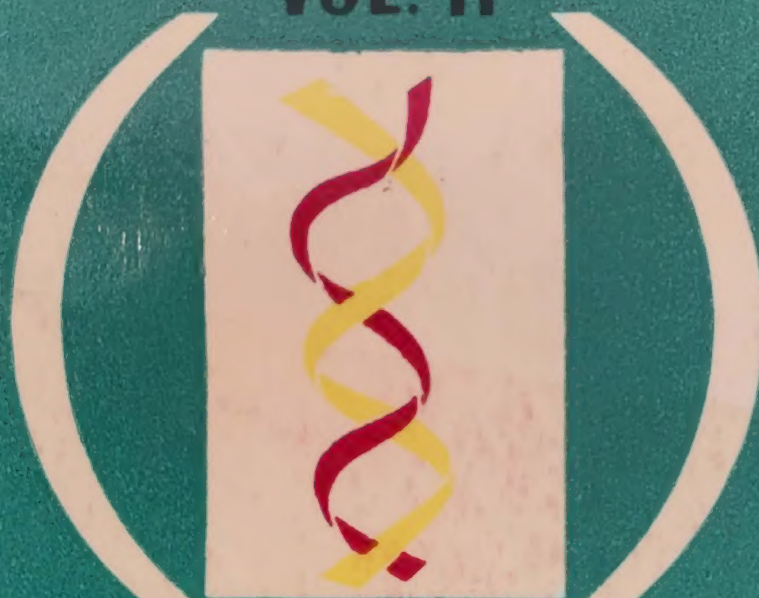


BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI MEDICINA MODERNĂ

APLICAȚII CLINICE
VOL. II



sub redacția
prof. O. FODOR

editura medicală

BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI MEDICINA MODERNĂ

vol. II (aplicații clinice)

Sub redacția Prof. O. FODOR



EDITURA MEDICALĂ — BUCUREȘTI, 1971

LISTA COLABORATORILOR

- Dr. I. N. BOERIU, conferențiar, Clinica a III-a medicală.
 Dr. LIDIA CUCU-CABADAIEF, șef de lucrări, Clinica I pediatrie.
 Dr. B. CUPARENCU, profesor, șeful Catedrei de farmacologie.
 Dr. doc. O. FODOR membru corespondent al Academiei R. S. România,
 profesor, Clinica a III-a medicală.
 Dr. A. IVANOF, conferențiar, Catedra de microbiologie.
 Dr. GH. JEBELEANU, cercetător, Catedra de biochimie.
 Dr. doc. I. MANTA, profesor, șeful Catedrei de biochimie.
 Dr. OCTAVIA MARGINEANU, conferențiar, Clinica a II-a de pediatrie.
 Dr. M. MORARIU, asistent, Clinica de neurologie.
 Dr. T. MUREȘIAN, cercetător principal, Laboratorul de imunologie,
 Institutul oncologic Cluj.
 Dr. E. NEUMANN, șef de lucrări, Clinica I chirurgie.
 Dr. G. NICOARĂ, asistent, Clinica a III-a medicală.
 Dr. doc. I. PĂCURARIU, profesor, șeful Clinicii oftalmologie.
 Dr. N. PĂRĂU, cercetător principal, Clinica a III-a medicală.
 Dr. RODICA POP, asistentă, Clinica de oftalmologie.
 Dr. L. ROMAN, cercetător, Laboratorul de chirurgie experimentală,
 Institutul oncologic Cluj.
 Dr. M. ȘERBAN, șef de lucrări, Clinica de neurologie.
 Dr. AURELIA SÎRBU, conferențiar, Clinica de psihiatrie.
 Dr. L. SULICA, asistent, clinica a III-a medicală.
 Dr. STELA URCAN, cercetător principal, Institutul de sănătate publică
 și cercetări medicale Cluj.
 Dr. R. VLAICU, conferențiar, Clinica I medicală.

CUVÎNT ÎNAINTE

Editura medicală ne oferă, în continuare, posibilitatea prezentării în acest volum a expunerilor din domeniul biologiei moleculare făcute în conferințe publice de către un grup de colaboratori din Institutul medico-farmaceutic din Cluj.

Exprimăm mulțumirile noastre Editurii medicale și de asemenea călduroase mulțumiri distinșilor autori. Apariția celui de al doilea volum, care reprezintă conferințele ținute în anul 1968/1969, a fost indiscutabil stimulată de buna primire a primului volum.

Nu credem că există în prezent un domeniu de mai mare efervescență și actualitate în biologie decât cel al biologiei moleculare. Am considerat potrivit ca medicii să între cât mai curînd în posesia cunoștințelor cuvenite, a rezultatelor din acest domeniu, care încep să aibă o foarte mare importanță în dezvoltarea biologiei și a medicinei în general, precum și în cea a practicii medicale. Lucrări de sinteză din acest domeniu sînt în general puține, iar transmiseri scrise potrivite activității practice medicale și mai puține sau aproape de loc în limba română. Această lipsă ar dori să o suplinească — în cât de mică măsură — această culegere de expuneri, axată cu deosebire spre genetica medicală.

Conf. I. Chiricuță, prin specialitatea sa, interesat în mod deosebit în acest domeniu, cu dinamismul și entuziasmul care îl caracterizează, are un apreciabil merit la această realizare. De asemenea, menționăm importanta contribuție a doctorilor G. Simu, O. Bîrzu, L. Sulica și C. Olinici, la definitivarea materialului.

Cluj, martie 1970

O. Fodor

CUPRINS

Lista colaboratorilor	Pag. 4
Cuvint inainte	5
<i>Capitolul I</i>	
Noțiuni de citogenetică umană — Stela Urcan	9
<i>Capitolul al II-lea</i>	
Aplicarea principiilor biologiei mole- culare în patologia umană — I. Manta, Gh. Jebeleanu	30
<i>Capitolul al III-lea</i>	
Individualitatea biochimică și bolile moleculare — I. Manta	53
<i>Capitolul al IV-lea</i>	
Mutații, variante genetice ale pro- teinelor și proceselor filogenetice la nivel molecular — I. Manta	70
<i>Capitolul al V-lea</i>	
Analiza variabilității datorite genelor majore cu ajutorul studiilor fami- liale — L. Sulică	102
<i>Capitolul al VI-lea</i>	
Mecanisme genetice în imunitate — T. Mureșian	109

<i>Capitolul al VII-lea</i>	Pag.
Controlul genetic al relațiilor anti- gen-informație antigenică — răs- puns imunitar — Antipa Ivanof	124
<i>Capitolul al VIII-lea</i>	
Unele probleme genetice ale bolilor autoimune — O. Fodor, G. Nicoa- ră, N. Părău	141
<i>Capitolul al IX-lea</i>	
Importanța genetice în patologia neurologică — M. Șerban, M. Mo- rariu	159
<i>Capitolul al X-lea</i>	
Genetica în psihiatrie — Aurelia Sirbu	194
<i>Capitolul al XI-lea</i>	
Genetica în patologia cardiovascu- lară — R. Vlaicu	204
<i>Capitolul al XII-lea</i>	
Aspecte ereditare ale bolilor cardio- vasculare comune — I. N. Boeriu	211

Capitolul al XIII-lea

Aportul geneticii în patologia digestivă — O. Fodor, Stela Urcan 223

Capitolul al XIV-lea

Aspecte genetice în oftalmologie — I. Păcurariu, Rodica Pop 241

Capitolul al XV-lea

Erorile innăscute de metabolism — Octavia Mărgineanu 262

Capitolul al XVI-lea

Aspecte citogenetice în patologia infantilă — Lidia Cucu-Cabadaief 276

Capitolul al XVII-lea

Biologia moleculară și unele aspecte ale grefelor și transplantărilor — Ed. Neumann 301

Capitolul al XVIII-lea

Teoria moleculară a narcozei; aspecte de farmacogenetică în anestezie — L. Roman 310

Capitolul al XIX-lea

Probleme de farmacogenetică — B. Cuparencu 327

NOȚIUNI DE CITO- GENETICĂ UMANĂ

Stela Urcan

Concepția de bază a eredității constă din faptul că materialul ereditar provenit în părți egale de la fiecare părinte își menține identitatea din generație în generație. Acest material se găsește în nucleu, unde este inclus în cromozomi, care la rândul lor sînt purtătorii genelor, fiecare genă controlînd o funcție celulară specifică. Studiul modificărilor cromozomiale vizibile microscopic și al corespondentului lor din interfaza nucleară, în relație cu tulburări genetice asociate, constituie obiectul citogeneticii.

Citogenetica s-a născut ca știință la o dată foarte recentă, în 1956, cînd J. H. Tjio și A. Levan (59) stabilesc numărul cromozomilor la om la 46. Pînă atunci se credea că acest număr este de 48. Interesul pentru studiul cromozomilor este desigur mult mai vechi. Termenul de cromozomi a apărut pe la mijlocul secolului trecut, cînd au fost observați în nucleu acești „corpi minuscule cu afinitate pentru anumiți coloranți bazici”. Probabil, cea dintîi descriere a cromozomilor în material uman a fost făcută de J. Arnold (1), în anul 1879, în țesuturile tumorale. Cu tot interesul citologilor conștiinței de importanța cromozomilor, primele date în legătură cu numărul acestora sînt contradictorii. H. de Winiwarter (64), în 1912, stabilește numărul cromozomilor la 47 la bărbați și 48 la femei. T. S. Painter (39), prin 1921, descoperă cromozomul y la bărbat și conchide, în anul 1923, că la om există 48 de cromozomi: 46 somatici și 2 cromozomi sexuali. În această eroare s-a persistat pînă în anul 1956, cînd Tjio și Levan, cum am mai amintit, utilizînd culturi tisulare somatice de embrion uman și șocul hipotonic, stabilesc definitiv numărul cromozomilor la 46. Această îndelungată eroare se datorește, pe de o parte, dificultăților tehnice și materialului nepropice, material prelucrat *post mortem* și, pe de altă parte, unui anumit respect pentru publicații anterioare, care i-a făcut pe unii autori să-și părăsească cercetările, deoarece rezultatele lor nu se armonizau cu cele precedente. Y. Mellander și colab. (31) își întrerupseseră cercetările pe celule hepatice de embrion uman unde găseau constant 46 cromozomi fiindcă nu corespundeau cu datele pînă atunci publicate. Reușita lui Tjio și Levan a fost pregătită de extinderea utilizării culturilor tisulare și de

observația lui T. C. Hsu (21) în sensul că șocul hipotonic permite dispersiunea cromozomilor și oferă astfel o mai bună vizualizare a lor. C. E. Ford și J. L. Hamerton (14), tot în 1956, confirmă numărul de 46 și pentru cromozomii din celulele sexuale. De la această dată, interesul pentru citogenetică crește brusc, se produce o adevărată „goană după aur” (21) și publicațiile de citogenetică se succed într-o cantitate și un ritm uluitor. Apar un număr de descoperiri fundamentale, cum este cea a lui J. Lejeune, M. Gauthier și R. Turpin (28), care în 1959 descriu trisomia 21 în mongolism, iar Patricia A. Jacobs și J. A. Strong (23), în 1959, descoperă formula XXY în sindromul Klinefelter. În 1960, reuniunea de la Denver a citogeneticienilor, comparând datele publicate, stabilește un sistem standard de clasificare a cromozomilor, acceptat și utilizat în toate lucrările. În afară de studiul cariotipului, citogenetica mai cuprinde și studiul cromatinei sexuale observată încă din anul 1949 de Barr și Bertram (2) și care aplicată la om a contribuit la elucidarea aberațiilor cromozomilor sexuali. Contribuția adusă de citogenetică pentru medicină este deosebit de valoroasă și cu introducerea unor tehnici ca autoradiografia, precum și utilizarea informațiilor de biochimie și biologie moleculară, se prevăd și în viitor contribuții valoroase din partea ei.

STUDIUL CARIOTIPULUI UMAN

Cromozomii, așa cum sînt ei studiați în laborator, sînt cromozomii din metafaza mitozei. Un cromozom în metafază apare constituit din două jumătăți numite cromatide unite printr-un centromer (fig. I, 1). Fiecare cromatidă este alcătuită dintr-un fir strîns spiralat, denumit cromonema. În metafază,

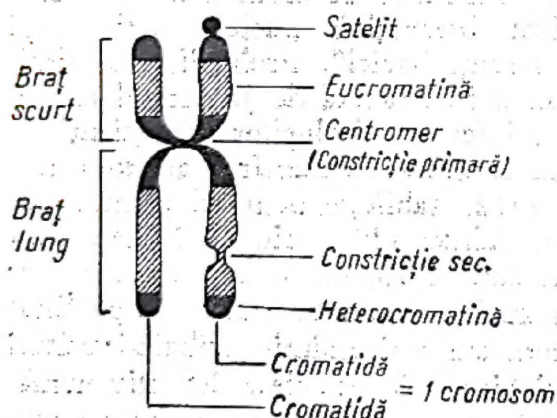


Fig. I, 1. Părțile unui cromozom în metafază [după R. R. Eggen (12)].

spiralarea este atât de strînsă, încît nu este vizibilă. Cromonema este alcătuită din ADN, histonă și o proteină incompletă. În profaza precoce înainte de spiralizare, pe aceste cromoneme se văd granule înșirate ca mărgelele pe un fir de ață: cromomerele. Centromerul desparte fiecare cromatidă în două brațe. Cromatidele, mai ales în stadiile precoce ale diviziunii celulare, nu se colorează uniform ci există zone mai intense de heterocromatină și unele mai pale, eucromatina. Heterocromatina este distribuită mai aproape de centromer și de extremitățile brațelor. Fracturile cromatidelor, care duc la anomalii structurale, au loc la joncțiunea dintre hetero- și eucromatină. Natura heterocromatinei nu este încă elucidată complet. Se admite în general că eucromatina este mai activă genetic decît heterocromatina. Centromerul are o poziție fixă în cromozomi; care împreună cu lungimea brațelor servește drept criteriu la identificarea cromozomilor. Cromozomii apar dispuși în perechi, ei sînt

identici în celulele somatice și se numesc autozomi, în timp ce cromozomii sexuali, fiind diferiți se numesc heterozomi: XY la bărbat și XX la femeie.

Diviziunea celulară normală. Scopul diviziunii celulare este împărțirea zestrei ereditare în părți egale la noile generații de celule. Diviziunea din celulele somatice se numește mitoză, iar cea din celulele germinale, meioză și are ca rezultat producerea gameților. De fapt, diviziunea începe în interfază, prin replicarea helixului de ADN. Celulele somatice au un număr diploid de cromozomi (23 de perechi), iar gameții au un singur set, sînt haploizi, deci au numai 23 de cromozomi. Celulele cu un număr normal de cromozomi sînt euploide, cele cu număr anormal sînt aneuploide. Celulele aberante pot avea 3 seturi (deci să fie triploide), 4 seturi (tetraploide) sau mai multe (poliploide).

Mitoza produce două celule fiice al căror complement cromozomial este identic numeric, fizic și chimic cu cel al celei din care provin. Ea se desfășoară de-a lungul a 5 faze: interfază, profază, metafază, anafază și telofază. În *interfază*, metabolismul nuclear este foarte viu, conținutul în ADN crește progresiv, astfel că imediat înaintea profazei cantitatea lui se dublează. În *profază*, cromatina începe să se condenseze, luînd forma cromozomilor alungiți, filamentoși, de aspectul unor șiraguri de mărgel (fig. 1, 2). Spre sfîrșitul profazei, cromozomii apar tot mai condensați și survine diviziunea lor longitudinală în două cromatide unite prin centromer. Au loc modificări și în restul celulei, membrana nucleară dispăre, iar centrozomul se divide și cele două jumătăți migrează la cei doi poli opuși. Debutul *metafazei* este treptat, cromozomii se aranjează într-un disc în centrul celulei la întîmplare. Se formează aparatul fusiform, fiecare centromer fiind legat prin firele lui de cei doi centrozomi opuși. Colchicina împiedică formarea fusului și oprește astfel mitoză în metafază, ușurînd dispersia cromozomială. Utilizarea colchicinei a jucat un rol important în ameliorarea tehnicilor de citogenetică. *Anafaza* începe prin scindarea fiecărui centromer și separarea cromatidelor, fenomen denumit disjuncție. Cromatidele separate migrează la polii celulei și fiecare devine un nou cromozom. *Telofaza* este inversul profazei: cromozomii se alungesc, devin filamentoși și se dispersează în cromatina nucleară. Concomitent apare și membrana nucleului. Noua celulă, inițial cu doi nuclei se divide prin apariția unui perete celular între aceștia. (fig. 1, 3).

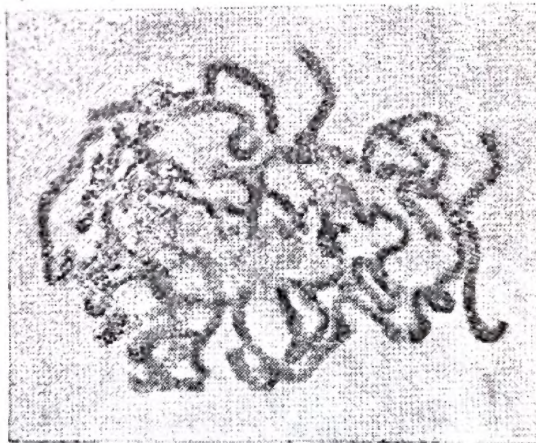


Fig. 1. 2. Nucleu în profază [după R. R. Eggen (12)].

Meioza se desfășoară printr-un mecanism mult mai complex, cuprinzînd două diviziuni succesive, meioza I și meioza II, care produc 4 gameți haploizi. Cele două meioze sînt separate printr-o scurtă fază inactivă și fiecare cuprinde cele 5 stadii cunoscute. În meioza I, profaza este foarte lungă și cuprinde ea însăși 5 stadii: leptoten, zigoten, pahiten, diploten și diachineza. Ea începe prin

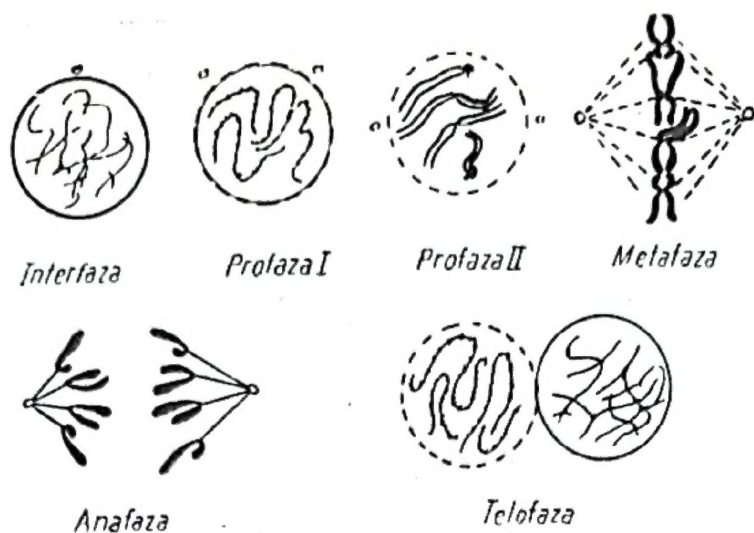


Fig. I. 3. Mitoza [după R. R. Eggen (12)].

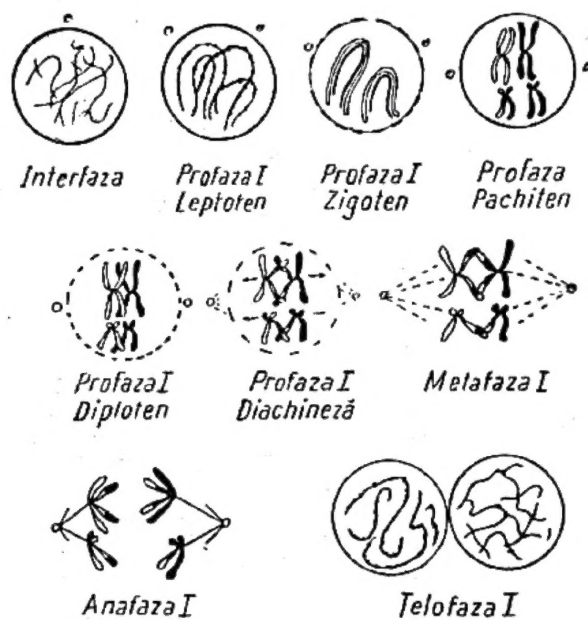


Fig. I. 4. Meioza I [după R. R. Eggen (12)].

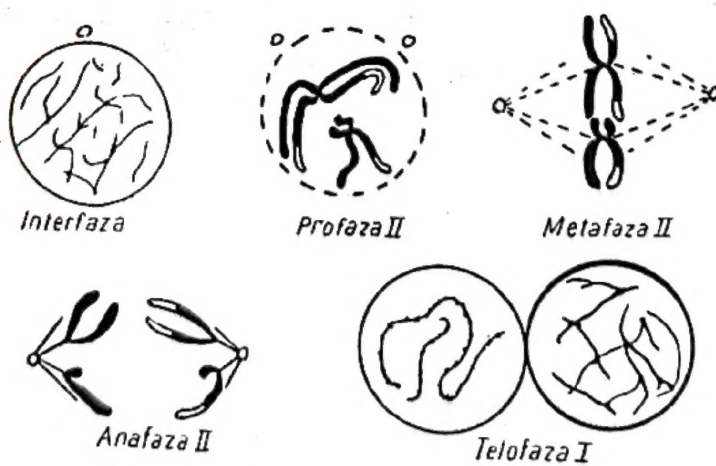


Fig. I. 5. Meioza II [după R. R. Eggen (12)].

condensarea cromatinei în fire subțiri, formînd un buchet, capetele lui fiind concentrate într-un punct de la periferia nucleului. În zigoten se produce apoi o împerechere a cromozomilor omologi, sinapsa, care constă într-o apozitie foarte strînsă și precisă, astfel că împerecherea se extinde pînă la nivel de subgenă și chiar la nivel de nucleotidă. În pahiten, membrii fiecărei perechi devin mai scurți, se află într-o apozitie strînsă, uneori chiar în contact unul cu altul. Apare apoi clivarea longitudinală în cromatide, astfel că fiecare pereche cromozomială este acum o tetradă. În diploten dispăre forța de atracție care unea cei doi cromozomi ai unei perechi și ei încep să se îndepărteze, rămînînd totuși atașați în anumite puncte, chiasme care sînt locurile în care are loc interschimbul de material genetic între membrii fiecărei perechi. Acest schimb intercromozomal de material genetic se numește *crossing-over*. Numărul chiasmelor este în funcție de lungimea cromozomului; pot exista pînă la 5 chiasme, iar în întregul complement uman pot fi întîlnite pînă la 60 de chiasme. Cromozomii sexuali neomologi XY se așază mai de grabă cap la cap în timpul sinapsei, astfel că există puține dovezi că s-ar putea forma chiasme și între aceștia. În diachineză, membrii perechii se despart rămînînd atașați doar la capete. În metafază se completează fusul, dar centromerul nu are o atașare bipolară, ci fiecare centromer este atașat de un singur centrozom. În anafază, spre deosebire de mitoză, centromerul nu se divide, cromatidele nu se separă, ci întregul cromozom al unei perechi este atras la un pol și omologul său la celălalt. Astfel, cei doi membri ai unei perechi, patern și matern, sînt separați și se produce o *diviziune redukțională*, la sfîrșitul metafazei apărînd cele două celule tîice haploide (fig. 1, 4). *Meioza II* este o diviziune ecuațională, în care ca și în mitoză, centromerul se divide și cromatidele fiecărui cromozom se desparte și migrează la cei doi poli, se produce deci o disjuncție. Diferența între mitoză și meioză este că în prima produsul este diploid, iar în meioză este haploid. În meioză, deși există două diviziuni succesive, helixul de ADN se replică o singură dată (fig. 1, 5). *Crossing over*-ul prezent în meioză dar care n-a fost demonstrat în mitoză, contribuie în mare măsură la eterogenitatea genetică. Complexitatea meiozei face ca în decursul ei susceptibilitatea la anomalii cromozomiale să fie mai mare decît în mitoză.

IDENTIFICAREA CROMOZOMILOR UMANI

Datorită progreselor tehnice realizate, sîntem astăzi în măsură să determinăm cariotipul adică să analizăm aspectul numeric și structural al cromozomilor (6, 12, 32, 42, 60). Principiul cariotipizării constă din recoltarea de celule capabile de diviziune, cultivarea și examinarea lor în metafază. Materialul cel mai frecvent utilizat este sîngele periferic, celulele care se divid fiind limfocitele. Cariotipul se mai poate determina din măduva osoasă, piele, fascii, lichide seroase, țesut tumoral. Ca medii de cultură se utilizează cele obișnuite pentru culturi tisulare. Se adaugă o fitohemaglutinină, care are o componentă stimulantă a mitozei precum și colchicină, care distruge corpul fusiform și oprește diviziunea în metafază. Ea are și un efect de contractare asupra cromatidelor, făcîndu-le mai scurte și mai bine conturate. Tratarea cu

soluții hipotone umflă celula și dispersează cromozomii. Frotiurile sînt uscate, colorate cu un colorant bazic cu afinitate pentru ADN: Giemsa, orceină, Feulgen; se fotografiază, se măresc de aproximativ 3 000 de ori și cromozomii se decupează și apoi se clasifică. Este meritul conferinței de la Denver din 1960 de a fi stabilit un sistem standard de clasificare a cromozomilor în funcție de poziția centromerului și lungimea brațelor. Perechile cromozomiale sînt împărțite în 7 grupe, notate de Patau cu litere de la A la G (fig. I, 6).

Grupa A (I) — perechile 1—3, cromozonii cei mai mari cu centromer median sau aproape median. Cele trei perechi se deosebesc între ele prin dimensiune și poziția centrometrului.

Grupa B (II) — perechile 4—5, cromozonii mari, cu centromer submedian; sînt greu de deosebit între ei, dar cromozomul 4 este ceva mai lung.

Grupa C (III) — perechile 6—12 și cromozomul X cuprinde cromozomi cu centromeri submediani. Cromozomul X se aseamănă cu cei mai lungi, în special cu perechea 6.

Grupa D (IV) — perechile 13—15, cromozomi mijlocii, acrocentrici cu sau fără sateliți.

Grupa E (V) — perechile 16—18, cromozomi mai mici cu centromeri aproape median.

Grupa F (VI) — perechile 19—20, cromozomi mici cu centromer median.

Grupa G (VII) — perechile 21—22 și cromozomul Y cromozomi foarte mici acrocentrici care, cu excepția lui Y, pot avea sateliți (fig. 1, 7).

Includerea perechilor într-una din cele 7 categorii nu este prea grea. Extrem de dificilă este numerotarea fiecărei perechi și acest fapt necesită un ochi foarte experimentat. Se utilizează în acest scop prezența sateliților, constricțiile secundare și autoradiografia. Experiența numeroșilor citogeneticieni, sintetizată în conferințele de la Londra din 1963 și Chicago din 1966 (6), a adus precizări utile relativ la identificarea cromozomilor. Astfel, s-a insistat asupra demonstrării constricțiilor secundare și a încorporării diferite a timidinei tritiate în anumiți cromozomi. S-a mai subliniat că în grupa A se observă constricții secundare în regiunea proximală a brațului lung, că la femei un cromozom din grupa C încorporează mai târziu timidina marcată, acesta fiind un cromozom X. Cromozomul Y este mai mare decît cromozomii 21 și 22, brațele sale lungi sînt mai apropiate și adesea prezintă o constricție secundară pe brațul lung. Conferința de la Chicago a propus o nomenclatură pentru descrierea complementului cromozomial uman și a aberațiilor sale, precum și o serie de simboluri care să fie utilizate de toți citogeneticienii. Se admite în general că cromozomii umani variază din punct de vedere morfologic la persoane fenotipic normale. Limitele normale ale acestei variabilități în diferitele populații nu au fost încă stabilite, astfel că mai sînt necesare studii la nou-născuți sau subgrupe ale populației.

Studii autoradiografice (6, 21, 51). Celulele în diviziune își dublează acidul lor dezoxiribonucleic în timpul unei perioade specifice din interfază, denumită perioada S. Această perioadă S este specifică pentru o anumită specie și linie celulară. Secvența replicării ADN în diverșii cromozomi și segmente cromozomiale poate fi studiată prin analiza autoradiografică a distribuirii și încorporării unui precursor radioactiv în ADN în cursul diferitelor

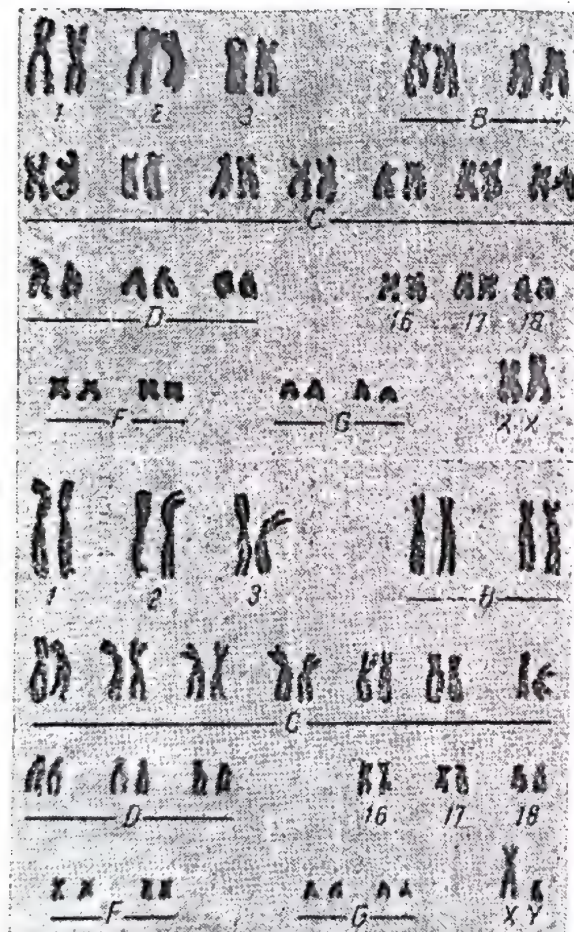


Fig. 1. 6. Cariotipul uman normal.

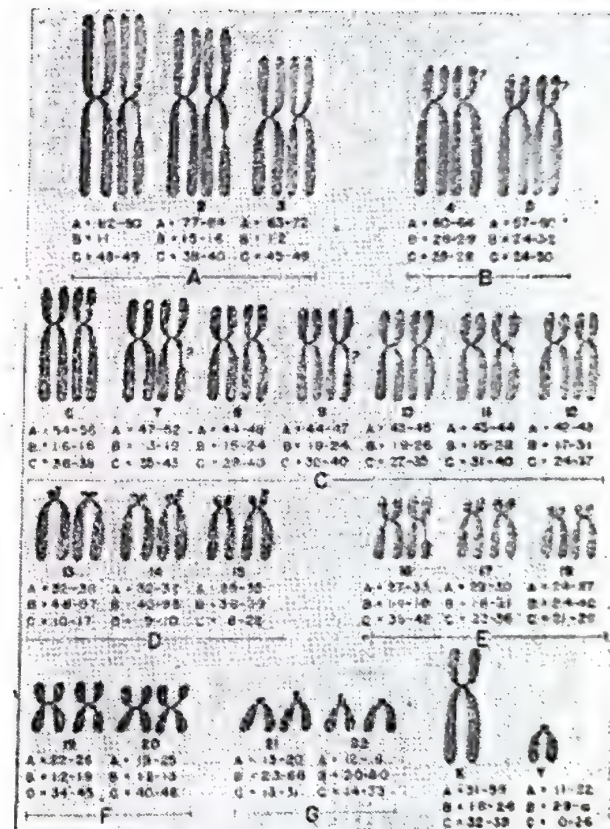


Fig. 1. 7. Idiograma cromozomilor umani.
A—Lungimea relativă, B—raportul braț lung/
braț scurt; C—indexul centromeric [după
R. R. Eggen (12)].

porțiuni ale perioadei S. Această analiză se poate face prin inspecție vizuală sau determinări cantitative. S-au observat diferențe ale încorporării între cromozomi, în special când aceasta este limitată la faza terminală a perioadei S. Aceste diferențe, alături de criteriile morfologice standard, pot fi utilizate la caracterizarea grupelor de cromozomi. Astfel, autoradiografia este utilă pentru diferențierea unui cromozom X față de ceilalți cromozomi din grupa C și pentru a identifica cromozomii X cu anomalii structurale. Cu anumite limitări, tehnica poate fi utilizată în diferențierea cromozomilor din grupele B, D și E, în caracterizarea perechilor 1—3 și 16 și în interpretarea aberațiilor numerice și structurale. Totuși, datele acumulate din literatură relevă că nu există dovezi concludente că ADN din cromozomii umani omologi se replică în mod sincron. Astfel, identificarea prin autoradiografie a anumitor cromozomi, ca și asocierea unor cromozomi particulari cu anumite îmbolnăviri rămâne încă nesatisfăcătoare (55).

CARTOGRAFIERIA CROMOZOMILOR

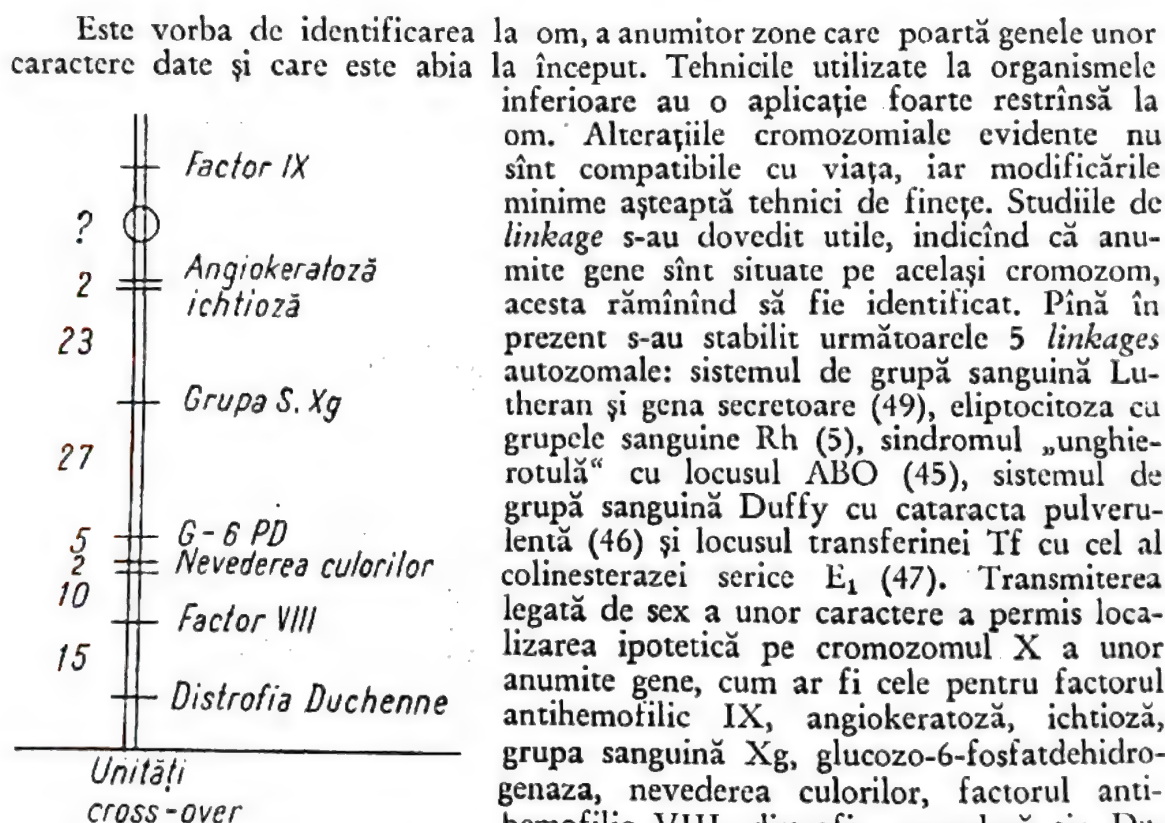


Fig. I. 8. Harta ipotetică a locilor pe cromozomul X [după W. M. Davidson (10)].

STRUCTURA BIOCHIMICĂ A CROMOZOMILOR UMANI (12, 22, 58, 62)

Dacă morfologia microscopică a cromozomilor, după studiile abundente din ultimii ani, este binecunoscută, visul tuturor citogeneticienilor rămîne descifrarea morfologiei moleculare și a fiziologiei lor. În acest scop, cercetătorii sînt nevoiți să facă apel la colaborarea biochimistilor și să combine structura moleculară a cromozomilor, păticeică cu păticeică, dintr-o varietate de surse adesea contradictorii. Pentru a studia metabolismul cromozomial mai activ în interfază, două metode sînt în special utilizate: microspectrofotometria și autoradiografia. Microspectrofotometria este o metodă cu ajutorul căreia se poate măsura cantitatea de ADN dintr-un preparat microscopic și să se exprime în unități absolute sau, în anumite condiții, numai în valori relative. Principiul constă din a utiliza un colorant standard pentru ADN nuclear și a măsura cantitatea de colorant care reprezintă de fapt cantitatea de ADN, prin trecerea unei lumini monocromatice adecvate prin nucleu. Măsurarea în acest fel a conținutului în ADN cromozomial este utilă pentru a caracteriza setul cromozomial al unei specii sau al unui individ mai precis decît prin simpla măsurare a lungimii brațelor cromozomiale. O altă metodă pentru studiul metabolismului acizilor nucleici este autoradiografia. Izotopul utilizat este timidina tritiată pentru studiul ADN și uridina tritiată pentru ARN, care se pot aplica animalului *in vivo* sau culturilor celulare *in vitro*.

Două tipuri de cromozomi întîlnite la unele animale inferioare joacă un rol deosebit în cercetările metabolismului cromozomial. Cromozomii politeni din nucleii celulelor epiteliului salivar și intestinal de la *Drosophila* apar ca niște cromozomi uriași și rezultă dintr-o replicare repetată a ADN fără ca celula să se dividă, astfel că cromonemele rămîn alăturate, cu cromomerele aliniate, dînd aspectul de benzi. Aceste benzi servesc ca markeri și modificările lor pot fi corelate cu tulburările ereditare. Cromozomii *lampbrush* sînt și ei niște megacromozomi aflați în celulele unor amfibieni din genul *Triturus*. Ei au un aspect penat, ca o consecință a separării cromozomului în șuvițe. Cele două benzi formează bucle laterale, în care cromomerele sînt spațiate. Acești cromozomi uriași au servit mult în studiile de marcarea cu izotopi. Ambele tipuri de cromozomi prezintă zone caracteristice de *puffing* numite și inețele Balbiani, care sînt zone de intensă activitate metabolică cromozomială (fig. I, 9).

Suportul biochimic al eredității a fost studiat intens la microorganisme, dar nu avem încă un model corespunzător al arhitecturii chimice a cromozomilor la formele superioare de viață. Relația dintre molecula de ADN și structura cromozomială este binecunoscută la bacterii care conțin o singură moleculă de ADN per genom, dispusă circular și avînd un singur punct pentru sinteza ADN. La organismele superioare există cromozomi multipli, care au histone în compoziția lor, un înveliș nuclear complex și o diviziune celulară de asemenea complicată. La acestea nu se cunoaște încă în ce mod moleculele de ADN sînt așezate în cromozomi. Swift, analizînd datele din literatură, arată că în această

priveală există două ipoteze: uninemă și polinemă (58). Conform primei ipoteze, cromozomul ar conține o singură moleculă de ADN care îl traversează de la un capăt la altul, sinteza ADN făcându-se semiconservativ. Forma bifilamentată a cromozomului la sfârșitul mitozei ar corespunde helixului dublu de ADN. Teoria polinemă sugerează o mai mare complexitate și o structură multifilamentoasă. Ea se bazează în primul rând pe dovada vizuală

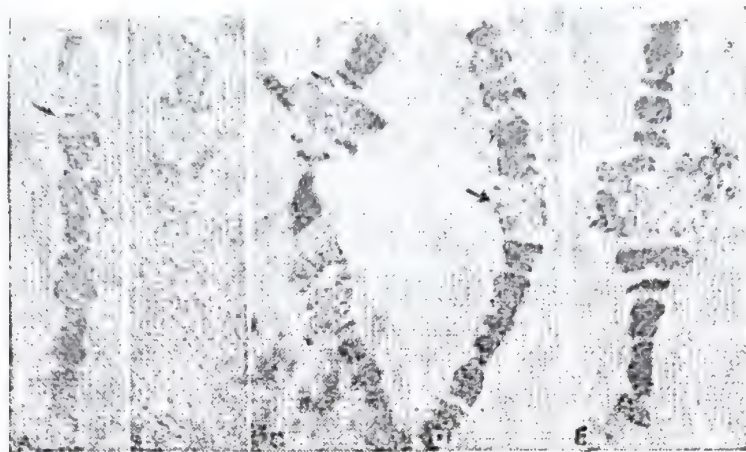


Fig. 1. 9. Cromozomi uriași cu „puff”-uri. A, B, C — puff-uri de ARN la *Drosophila*; D, E — „Puff”-uri de ADN la *Sciara* [după H. Swift (58)].

a două filamente în cromozomul din anafază, apoi pe studiile de marcarea cu timidină tritiată și pe aspectul multifilamentos în microscopia electronică. A fost propus un model asemănător cu structura cromozomilor *lampbrush*, în care o serie de bucle, fiecare reprezentând probabil o singură unitate de transcripție, sînt înșirate de-a lungul axei centrale. S-ar presupune că această formă în bucle ar trece într-o formă liniară în timpul împerecherii meiotice (54).

Există încă multe necunoscute în legătură cu structura biochimică a cromozomilor. Unele studii recente acordă un mare interes histonei din compoziția lor. Se afirmă că genele reglatoare își exercită acțiunea inhibitorie asupra operonului prin intermediul unui represor histonic (62). S-a mai sugerat că histona din cromozomi este responsabilă pentru formarea heterocromatinei. Histonele bogate în lizină au un efect inhibitor mai mic decît cele bogate în arginină. Pierderea din celule a histonei bogată în arginină a fost implicată în etiologia neoplaziilor. După unele cercetări, heterocromatina este mai bogată în histone decît eucromatina, iar replicarea ADN este întîrziată în zonele heterocromatice.

MODIFICĂRI NUMERICE ȘI STRUCTURALE ALE CROMOZOMILOR

Anomaliile numerice ale cromozomilor se numesc aneuploidii. Ele pot afecta întregul set, numărul cromozomilor fiind un multiplu al lui n . Celulele haploide cu 23 cromozomi ($1n$) apar în gameții normali sau ca anomalie în sarcina partenogenetică. Diploidia ($2n$) este prezentă în țesuturile normale sau

ca anomalie în gametii anormali diploizi. Triploidia constă din 69 de cromozomi ($3n$), iar poliploidia are $4n$ sau mai mulți. Anomaliile pot afecta de asemenea unul sau mai mulți cromozomi individuali: monosomie, când lipsește un cromozom dintr-o pereche, cum este cazul sindromului Turner, unde este absent un X; trisomie, când un cromozom se află în triplicat, ca în sindromul Down; polisomie, când un anumit cromozom este prezent de 4 sau mai multe

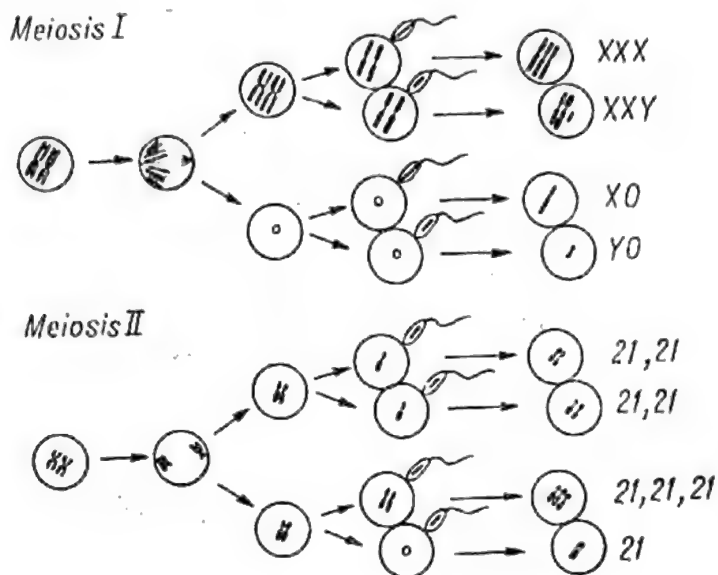


Fig. 1. 10. Nondisjunția meiotică [după R. R. Eggen (12)]

ori. Când aberația numerică afectează toate celulele corpului vorbim de heteroploidie și când numai o parte din celule sînt afectate, este vorba de mozaicism. Cromozomii supranumerari apar în mod ocazional la om (se pare că numai în stări patologice), în timp ce la plante și animale pot surveni și în absența modificărilor fenotipice (fig. 1, 10).

Cauza cea mai frecventă a anomaliilor cromozomiale este *nondisjunția*, adică lipsa de separare și migrare a cromatidelor, care trebuie să aibă loc în mitoză și în cursul primei și celei de-a doua diviziuni meiotice. Cele mai multe aneuploidii afectează cromozomii sexuali, pentru că aceștia au anumite particularități care predispun la nondisjunție. Cromozomii de sex au o tendință la replicare mai lentă a ADN și când această asincronie este exagerată, ei rămîn atașați la un pol al celulei, astfel că nu se face distribuția egală în cele două celule fiice. Autozomii prezintă și ei aneuploidii, dar nu există încă explicații suficiente pentru acest fenomen; una din ele ar fi că aneuploidiile sînt sub influența unei gene anumite, dovadă predispoziția familială pentru anomalii cromozomiale. Există de asemenea o corelație între incidența defectelor congenitale și vîrsta înaintată a mamei (în sindromul Down), mai puțin a tatălui, ceea ce sugerează că îmbătrînirea tulbură activitatea meiotică a celulelor ger-

minale. Aceasta se explică prin faptul că oocitul primar intră într-o lungă perioadă inactivă mitotic, care ține din viața intrauterină până la ovulație, în timp ce spermatoцитеle își continuă activitatea tot timpul vieții adulte.

ANOMALIILE STRUCTURALE ALE CROMOZOMILOR

Au o mai mare semnificație pentru patologie decât cele numerice. Ele reprezintă elementul fizic al evoluției, dar tehnicile sînt încă destul de grosolane și nu permit detectarea unor modificări structurale mai fine. Modificările structurale se datoresc rupturilor cromozomiale și lipirii fragmentelor rupte cu interschimb de material genetic între cromozomii afectați. Fragmentele rupte, care nu conțin centromer, de obicei se pierd. Iată cîteva exemple de anomalii structurale:

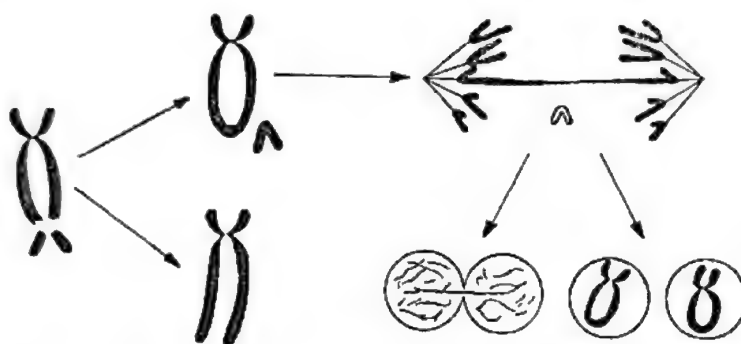


Fig. I, 11. Ruptură cromozomială [după R.R.Eggen (12)].

Deleția este pierderea de material genetic datorită unei rupturi cromozomiale. Cel mai cunoscut exemplu este cel al deleției brațului unui acrocentric mic din mieloleucoza cronică, cunoscută sub denumirea de cromozomul Philadelphia (fig. I, 12).



Fig. I, 12. Deleție [după R. R. Eggen (12)].

Translocația constă dintr-un schimb de material genetic între doi cromozomi neomologi. Ea este o consecință a unor rupturi simultane în doi cromozomi cu realipirea greșită a fragmentelor și este una dintre cele mai frecvente aberații la om. Într-un studiu pe 2 159 de nou-născuți, translocația D/D a

fost prezentă cu o frecvență de 0,10%, cifră care sugerează că această formă de anomalie ar putea reprezenta cea mai frecventă variație structurală la om (50) (fig. I, 13).

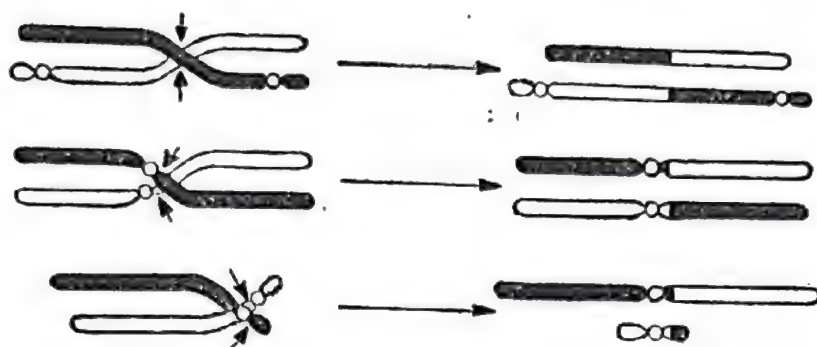


Fig. I, 13. Translocția asimetrică (sus) și simetrică (jos) [după R. R. Eggen (12)].

Duplicația produce un cromozom în care un segment este prezent în doză dublă și rezultă mai adesea dintr-un *crossingover* inegal (fig. I, 14).

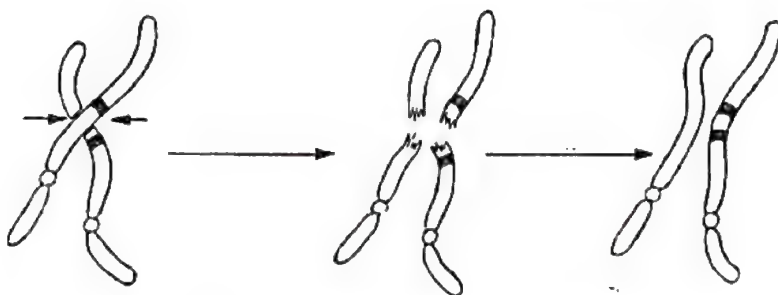


Fig. I, 14. Duplicația [după R. R. Eggen (12)].

Isocromozomii. Un isocromozom are două brațe absolut identice și poartă aceiași loci genetici. Ei se formează prin două mecanisme: prin fuziunea centrică între doi cromozomi omologi fracturați la nivelul centromerului sau prin

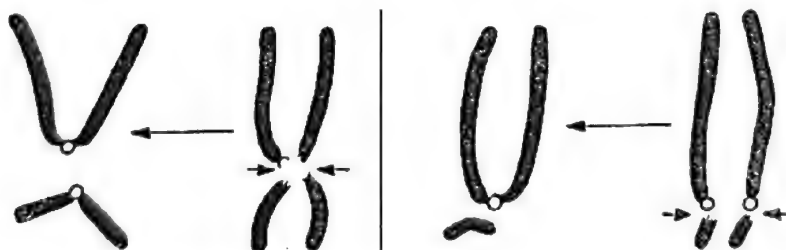


Fig. I, 15. Formarea izocromozomilor [după R. R. Eggen (12)].

reunirea firelor surori într-un singur cromozom dacă are loc o fisiune transversă a cromozomului după formarea celor două cromatide (fig. I, 15).

Cromozomii inelari se formează prin ruperea la cele două capete ale aceluiași cromozom și relipirea lor. Ei sînt frecvenți în celulele iradiate (fig. I, 16).

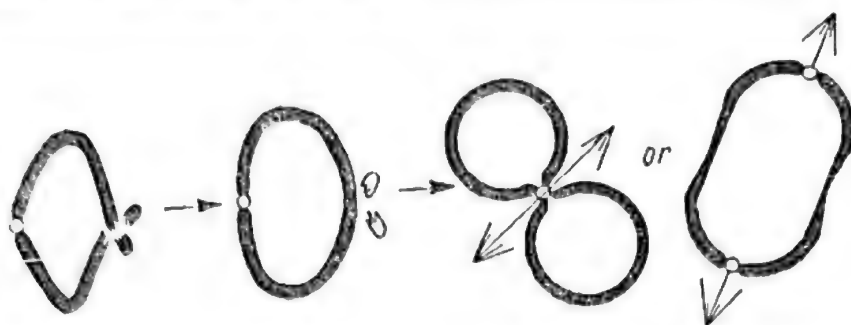


Fig. I, 16. Formarea cromozomilor inelari [după R.R. Eggen (12)].

Inversiunea rezultă din ruptura dublă a unui singur cromozom în care segmentul dintre cele două rupturi se rotează cu 180° și se realipește. Nefiind vorba de o pierdere de material genetic, efectele fenotipice nu sînt evidente și sînt greu de detectat.

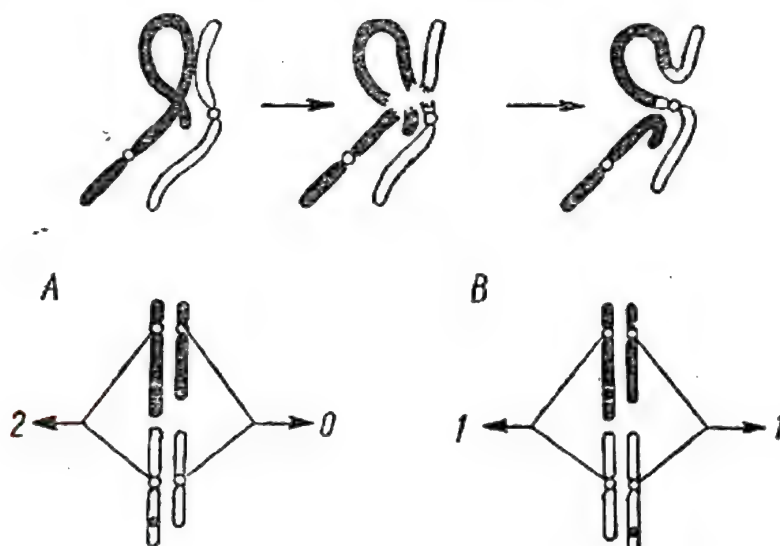


Fig. I, 17. Formarea inserțiilor [după R. R. Eggen (12)].

Insertia rezultă din trei fracturi cromozomiale la doi cromozomi și fragmentul rupt de pe un cromozom este realipit pe celălalt (fig. I, 17).

ETIOLOGIA ANOMALIILOR CROMOZOMIALE

Anomaliile pot fi produse prin două grupe de factori, intrinseci și de mediu. Factorii intrinseci pot fi generali (vîrsta, complementul genetic) și cromozomiali. Factorii extrinseci, de mediu, sînt radiațiile, substanțele chimice, virusurile și bolile cronice metabolice sau infecțioase.

Radiațiile. Rolul radiațiilor a fost observat atât *in vitro* în culturi tisulare, cât și *in vivo*. Culturile celulare expuse razelor Röntgen prezintă modificări cromozomiale care sînt mai frapante cînd aceeași doză de iradiatii se administrează în mai multe expuneri. Mediatorul efectelor razelor Röntgen sînt radicalii liberi de tip $\text{HO}\cdot$ și $\text{HO}_2\cdot$. Aceste particule sînt foarte active, cu o serie de grupări chimice. La nivel cromozomial, leziunile se traduc prin fracturi ale cromozomilor sau ale cromatidelor. Celulele sînt de 5 ori mai sensibile la radiații în faza duplicării cromatidelor decît în interfază. Toate anomaliiile structurale enumerate sînt posibile, cromozomii dicentrici și inelari fiind mai cu seamă prezenți. Cele mai numeroase defecte produse sînt structurale, aneuploidia fiind mai rară. Efectul *in vivo* asupra persoanelor iradiate și asupra urmașilor este mai puțin documentat. Există rapoarte despre anomalii cromozomiale apărute în celulele sanguine la persoane iradiate cu raze Röntgen sau care au primit doze terapeutice de I^{131} . Aceste anomalii își ating maximum cam la o săptămîină și pot dura mai mulți ani. Caratzali și colab., studiind cariotipul persoanelor iradiate cronic profesional, găsesc anomalii cromozomiale discrete în 20 din 78 de microfotografii examinate. Există de asemenea lucrări despre anomalii cromozomiale la descendenții părinților iradiați. Astfel, la 38 de supraviețuitori după bombardamentul atomic de la Hiroshima și Nagasaki, expuși *in utero*, frecvența aberațiilor cromozomiale a fost de 39% în contrast cu frecvența de 4% la persoanele de control (3). Într-un studiu la peste 6 000 de femei expuse unor examinări radiologice abdominale, se constată un risc crescut pentru nondisjuncție la descendenți (61).

Substanțele chimice. Inducerea aberațiilor cromozomiale prin substanțe chimice constituie un cîmp de intense investigații citogenetice. Substanțele chimice pot acționa prin mecanisme multiple: unele, ca azotiperita și endoxanul, se comportă ca radiomimetice, altele ca, de exemplu, colchicina, sînt toxice ale mitozei, altele acționează ca analogi nucleotidici. Unele substanțe, ca hidroxilamina sau actinomicina D, induc variate anomalii cromozomiale, de aceea au fost mult utilizate în experimente pentru evaluarea ipotezelor în legătură cu structura chimică a cromozomilor (22). Un interes deosebit s-a acordat leziunilor induse prin substanțe medicamentoase. Astfel, studii *in vivo* și *in vitro* au demonstrat că substanțe psihotrope ca clorpromazina, dietilamida acidului lisergic și altele pot produce aberații cromozomiale majore (8, 9, 37).

Virusurile. Rolul virusurilor în inducerea aberațiilor cromozomiale a fost intens cercetat atât la ființele inferioare cât și la om (24, 34, 35, 44, 56, 57). În celulele sanguine ale bolnavilor cu rubeolă au fost evidențiate frecvente anomalii. S-au publicat o serie de articole asupra apariției aberațiilor cromozomiale în culturi tisulare, induse de virusul herpetic, rujeolic, adenovirusuri etc. Nu se poate afirma cu certitudine dacă aceste leziuni sînt consecința directă a acțiunii virusului asupra ADN sau dacă ele sînt efectul secundar al tulburărilor metabolice în urma infecției și replicării virale. La bacterii sînt bine cunoscute mecanismele prin care virusurile induc modificarea funcției cromozomiale: lizogenia, transformarea, transducția. Este posibil ca aceste mecanisme să poată fi descoperite și în material uman.

CROMATINA SEXUALĂ

Prima tehnică de citogenetică introdusă în practică, înainte chiar de punerea la punct a cariotipului, a fost testul cromatinei sexuale. În 1949, M. L. Barr și E. G. Bertram (2) au observat în neuronii pisicilor femele o masă de cromatină în nucleu, Feulgen pozitivă, atașată de membrana nucleară

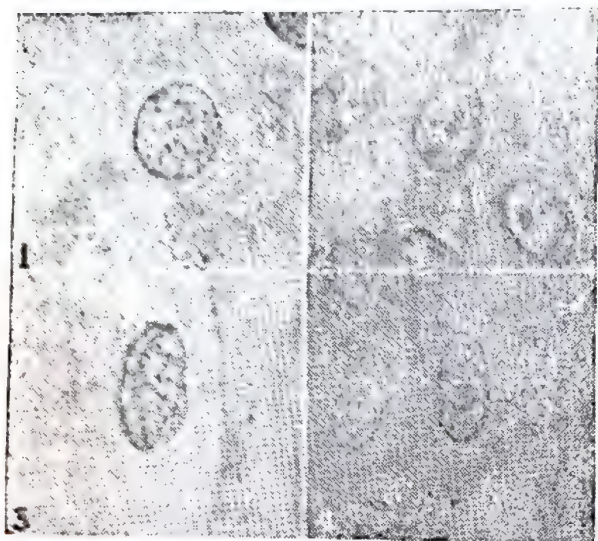


Fig. I, 18. Nuclei cu cromatina sexuală pozitivă [după R. R. Eggen (12)].

sau de nucleoli. S-a văzut că această masă de cromatină este prezentă și la alte specii, inclusiv la om, și de asemenea în alte țesuturi, dar numai la femei nu și la bărbați. Acest corpuscul este cunoscut sub denumirea de corpuscul Barr sau cromatină sexuală (fig. I, 18). În 1954, Davidson și Smith descriu pe nucleii leucocitelor polinucleare la femei un apendice ca o măciucă sau „băț de tobă”, cu aceeași semnificație ca și cea a corpusculului Barr (fig. I, 19). S-a pus la punct apoi o tehnică comodă de evidențiere a sexcromatinei în celulele epiteliale bucale. Aceasta s-a dovedit foarte utilă în determinarea sexului genetic și este larg aplicată în studiul tulburărilor dezvoltării

sexuale la om. Natura sexcromatinei a fost subiectul multor ipoteze. S-a pus întrebarea dacă ea reprezintă mai mulți cromozomi, unul singur sau numai o parte din el și care anume. Deoarece cariologic femeia se caracterizează prin formula XX, iar bărbatul prin XY, pare verosimil să se atribuie prezența

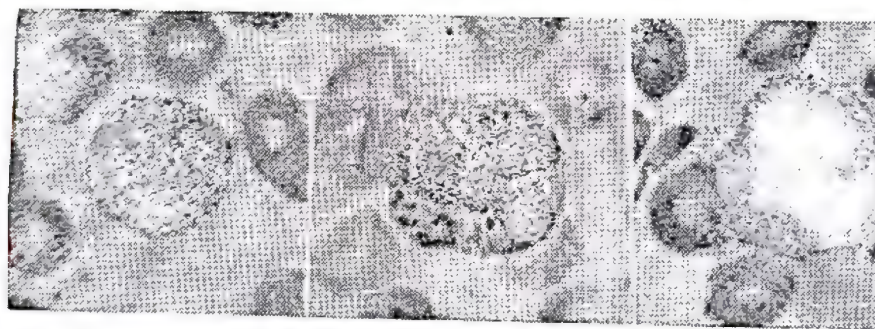


Fig. I, 19. Leucocite neutrofile cu apendici nucleari [după R. R. Eggen (12)].

sexcromatinei unui cromozom X. Ipoteza mai larg acceptată în privința originii sexcromatinei este cea emisă de M. F. Lyon (29), bazată în bună parte pe studiile lui Ohno, și care susține că acest corpuscul reprezintă un cromozom X foarte condensat în interfaza nucleilor somatici atât la om, cât și la alte mamifere. La bărbat, unde X este singur, în celulele somatice și spermatogonii el se comportă ca și când ar fi compus numai din eucro-

matină, luînd un aspect de alungire extremă, astfel că nucleii acestor celule sînt negativi pentru sexcromatină. În celulele somatice femele, cei doi X se comportă diferit, unul rămîne fin și alungit, deci invizibil în interfază, celălalt se condensează, se heterocromatinizează, formînd sexcromatina. În general, numărul corpiilor Barr este egal cu numărul cromozomilor X-1. Este exagerat să se afirme că testul sexcromatinei determină adevăratul sex genetic. Mai exact, el determină numărul cromozomilor X, de aceea nu se vorbește de frotiu masculin sau feminin, ci mai corect de sexcromatină pozitivă sau negativă.

APLICAREA CITOGENETICEI ÎN PRACTICA MEDICALĂ

Într-una din lucrările sale, citogeneticianul T. C. Hsu (21) afirmă că „luna de miere a citogeneticii s-a terminat”, pentru că așa cum se întîmplă după orice debut glorios, au urmat și în acest domeniu dezamăgiri pentru unii cercetători care au sperat să găsească în citogenetică un răspuns la toate problemele puse de bolile ereditare. Există totuși premise care lasă să se întrevadă că ea va mai aduce contribuții valoroase în viitor. Pe lîngă aportul său fundamental în descifrarea mecanismelor intime ale eredității, citogenetica a devenit foarte utilă și pentru practica curentă. Există un număr de domenii în care tehnicile citogenetice sînt foarte necesare. Acestea sînt: diagnosticul diferențial al malformațiilor congenitale, „sfatul genetic” pentru părinții care au deja copii cu o anomalie ereditară, diagnosticul diferențial al intersexului, amenoreea primară, sterilitatea, diagnosticul diferențial al unor hemopatii, diagnosticul diferențial al disproteinemiilor, aplicațiile medico-legale, determinarea prenatală a sexului și altele a căror valoare clinică nu este încă precis stabilită. Pentru a înțelege mai bine utilitatea clinică a tehnicilor citogenetice vom face o foarte succintă trecere în revistă a cîtorva afecțiuni caracterizate prin aberații cromozomiale.

ANOMALII ALE CROMOZOMILOR SEXUALI

Dintre stările clinice mai importante asociate cu anomalii ale cromozomilor sexuali cităm: sindromul Turner, sindromul Klinefelter, femeii cu X multiplu și hermafroditismul adevărat.

Sindromul Turner sau disgenezia gonadală survine la femei. Ele au formula cromozomială XO, deci numai 45 de cromozomi, și testul sexcromatinei negativ. Incidența sa este scăzută, aproximativ 0,4‰. Etiologia sa este nondisjunția genetică mai frecvent în timpul gametogenezei masculine. Din punct de vedere clinic, femeile sînt amenoreice, mici de statură, organele genitale externe sînt hipoplazice și caracterele sexuale secundare subdezvoltate. Gonadele sînt absente sau reduse la o stromă de tip ovarian fără formațiuni foliculare. Aceste manifestări se mai însoțesc de modificări caracteristice ca gît palmat, *cubitus valgus*, implantarea joasă a părului la ceafă, defecte viscerale dintre care mai frecventă este coarctația aortei.

Sindromul Klinefelter întâlnit la bărbați este o disgenezie tubulară testiculară, cu sexcromatina pozitivă și formula cromozomială XXY, deci un număr total de 47 de cromozomi. Este cea mai frecventă anomalie cromozomială, apărând cu o frecvență de 1 la 700 de nașteri vii. Clinic, simptomele devin evidente la pubertate. Testiculele rămân mici, cu azoospermie. Aspectul este eunucoid, cu ginecomastie și uneori cu un grad ușor de deficit mintal. Pe lângă formula cromozomială citată se mai întâlnesc și formule ca XXXY, XYYY sau mozaicuri XXY/XX.

Femeile cu X multiplu au un cariotip cu 3 sau chiar 4 X sau mozaicuri, deci mai mult decât o masă de sexcromatină. Ele nu au modificări fenotipice consistente, pot avea tulburări menstruale și lipsa caracterelor sexuale secundare, dar adesea aspect fenotipic normal. Cele mai multe sînt retardate intelectual, de aceea denumirea de „superfemele” împrumutată de la *Drosophila* nu este adecvată (21).

În hermafroditismul adevărat la om, cînd sînt prezente ambele gonade, cariotipul este în majoritatea cazurilor de tip XX, iar sexcromatina pozitivă. În cazurile pseudohermafrodite, sexul gonadal și genetic sînt în acord și numai organele genitale externe sînt diferite. Rezultă din aceste exemple utilitatea determinării sexcromatinei și cariotipului în cazuri de anomalii ale organelor genitale, infertilitate, amenoree.

ABERAȚII ALE CROMOZOMILOR AUTOZOMI

Mongolismul sporadic, sindromul Langdon-Down sau trisomia 21 a fost prima boală în care s-a descris asocierea cu un defect cromozomial (28). Frecvența bolii este aproximativ de 1 la 800 nașteri vii. Există o corelație strînsă între vîrsta mamei și incidența mongolismului, ceea ce sugerează că nondisjunctia apare în cursul oogenezei. Manifestările clinice sînt binecunoscute, dar boala în special la nou-născut nu poate fi diagnosticată numai pe baza acestor criterii și de aici necesitatea determinării cariotipului. Trăsăturile clinice cele mai frecvente sînt faciesul mongoloid cu plica epicantică și nas turtit, retardare mintală, limba fisurată, plica palmară simiană caracteristică, defecte viscerale, mai ales cardiace. Spre deosebire de alte trisomii autozomale, mongolismul este compatibil cu dezvoltarea pînă la vîrsta adultă, ceea ce subliniază efectul de doză: cu cît cromozomul afectat este mai mare, cu atît deficiențele produse sînt mai severe. În afară de mongolismul sporadic trisomic există și un mongolism familial, mai rar, în care aberația cromozomială este structurală și anume translocatie între cromozomul 21 și unul din grupa D (13—15) sau G (21—22): D/G sau G/G. Un fapt care necesită să fie subliniat este asocierea dovedită statistic dintre mongolism și leucoză. Această asociere sugerează că leucoza și mongolismul sînt induse de același cromozom sau tulburarea cromozomială predispune la neoplazie sau că, ambele, anomalia cromozomială și neoplazia reflectă o predispoziție ereditară pentru o diviziune celulară anormală.

Sindromul trisomiei grupei D (13—15) (40) este foarte rar și de o mare gravitate, încît copiii atinși nu trăiesc peste vîrsta de 1 an. Anomaliile

mai frecvente sînt retardare mintală, surditate, defecte oculare, cardiace, buză de iepure, gură de lup, polidactilie, hemangioame multiple și altele. Trisomia grupei E (16—18) (11) se caracterizează prin defecțiuni multiple, ca hipertonic, occipital proeminent, urechi malformate, mandibulă mică, degete flectate, diverticul Mekel, defecte cardiace, pancreatice și renale. Cea mai lungă supraviețuire a fost de 23 de luni.

Dintre defectele cromozomilor autozomi mai merită să fie menționate aberațiile cromozomiale din bolile hematologice.

Anomalia cromozomială din *mieloleucoza cronică*, descrisă pentru prima dată în 1960 (38) constă din deleția brațului lung al cromozomului 21, denumit de atunci Ph¹ sau cromozomul Philadelphia. Numeroase studii au arătat că prezența acestui cromozom este specifică pentru această boală, în care este prezent cu o frecvență de 90—95% (17, 18, 36). Anomalia se întâlnește la bolnavii netratați și este limitată la celulele măduvei osoase. Evidențierea sa este foarte utilă pentru diagnosticul diferențial față de metaplazia mieloidă.

La bolnavii cu *policitemia vera*, precum și cu alte boli mieloproliferative a fost descris un extracromozom în grupa C (26, 27).

În *leucozele acute* s-au găsit numeroase tipuri de aberații cromozomiale, dar s-a constatat că ele nu sînt specifice. S-au descris cromozomi în plus sau în minus, aparținînd mai frecvent grupelor C sau G. Aproximativ jumătate din cazurile de leucoză acută prezintă anomalii cromozomiale. Cromozomii anormali „marker” au fost descriși și în mielofibroza acută (33). În limfocitoză cronică nu se găsesc modificări cromozomiale importante și anomaliile descrise ar putea fi întâmplătoare.

Sînt interesante anomaliile numerice și structurale constatate în *anemia pernicioasă* (25). Merită să fie menționată monosomia G 21 observată în această boală și care ar putea reprezenta o predispoziție congenitală sau cîștigată la megaloblastoză. Prezența acestei anomalii și în această boală subliniază rolul cheie pe care perechea 21 se pare că-l joacă în hematopoieză.

Numeroase publicații aduc dovezi despre existența anomaliilor cromozomiale în *gamapati* (4, 15, 20, 27, 30). Atît în macroglobulinemie cît și în mielomul multiplu s-au găsit cromozomi anormali în grupa A denumiți cromozomi GM (gamapatie monoclonală) (20). În mielomul multiplu s-a mai descris un *marker* acrocentric asemănător cu cromozomii grupei D, precum și numeroase alte anomalii nespecifice. Nu s-a putut face nici o asociere între anomalia citogenetică și proteina anormală produsă.

În *neoplazii*, studiile citogenetice sînt aplicate de mulți ani și literatura în legătură cu acest domeniu este extrem de abundentă. În cele mai multe neoplazii s-au descris anomalii atît numerice, cît și structurale, care sînt însă întâmplătoare și neprevizibile. Se pare că aneuploidia tumorilor primare este mai puțin frapantă decît a metastazelor. Nu există totuși corelație între aneuploidie și activitatea biologică a tumorii. Se discută dacă aberațiile cromozomiale sînt cauza transformării maligne sau consecința ei și încă nu s-a dat un răspuns definitiv în această problemă. Oricare dintre factorii implicați în etiologia cancerului, virusuri, radiații, substanțe chimice, sînt capabili să producă aberații cromozomiale.

De un deosebit interes sînt observațiile despre asocierea bolilor cu componentă imunologică cu aberațiile cromozomiale (13, 53, 63). Există publicații despre asocierea tiroiditei Hashimoto cu sindromul Turner sau cu mongolismul. S-a raportat de asemenea corelarea disgeneziei gonadale cu colita ulcerasă. Prezența autoanticorpilor la persoane cu anomalii cromozomiale, precum și la rudele acestora sugerează că autoanticorpii la părinți ar putea cauza anomaliile citogenetice la gamete sau zigote. Pe de altă parte, anomaliile cromozomiale pot duce la o predispoziție crescută pentru fenomene autoimune. Asocierea bolilor autoimune cu aberații cromozomiale trezește speranța că în viitor, genele responsabile pentru sinteza imunoglobulinelor vor putea fi localizate pe anumiți cromozomi.

Într-un timp relativ scurt, citogenetica a străbătut un drum lung și a deschis numeroase perspective de cercetare. Este posibil ca o dată cu perfecționarea tehnicilor să se realizeze noi progrese în legătură cu maparea cromozomilor, descifrarea structurii lor biochimice și rolul lor în diversele procese biologice ale organismului uman.

BIBLIOGRAFIE

1. Arnold J. (citad de R. R. Eggen) — Chromosome Diagnostics in Clinical Medicine Ed. Ch. C. Thomas, Springfield, 1965.
2. Barr M. L., Bertram E. G. — *Nature (Lond.)*, 1949, 163, 676.
3. Bloom A. D., Neriishi S., Archer P. G. — *Lancet*, 1968, 2, 10.
4. Bottura C., Ferreri L., Veiga A. A. — *Lancet*, 1961, 1 170.
5. Chalmers J. N. M., Lawler S. D. — *Ann. Eugen (Lond.)*, 1953, 17, 267.
6. * * * Chicago Conference: Standardization in Human Cytogenetics, Ed. D. Bergsma J. L. Hamerton, H. P. Klinger, The National Foundation — March of Dimes, New York, 1966.
7. Chioreanu L., Wiener F. — *Stud. Cercet. Embriol.* (citad), 1968, 5, 2, 187.
8. Cohen M. M., Hirschhorn K., Frosch W. A. — *New Engl. J. Med.*, 1967, 277, 20, 1 043.
9. Cohen M. N., Mukherjee A. B. — *Nature (Lond.)*, 1968, 219, 5 158, 1 072.
10. Davidson W. M. — *Proc. roy. Soc. Med.*, 1967, 60, 439.
11. Edwards J. H., Harnden D. G., Cameron A. H., Crosse V. M., Wolf O. H. — *Lancet*, 1960, 1 787.
12. Eggen R. R. — Chromosome Diagnostics in Clinical Medicine, Ed. Ch. C. Thomas, Springfield, 1965.
13. Fialkow P. J. — *Lancet*, 1964, 1, 474.
14. Ford C. E., Hamerton J. L. — *Acta Genet. (Basel)*, 1956, 6, 264.
15. German J. L., Biro C. E., Bearn A. J. — *Lancet*, 1961, 2, 48.
16. German J. L., Walker M. E., Stiefel F. H., Allen F. H. Jr. — *Science*, 1968, 162, 1 014.
17. Goh Kong-O O., Swisher S. N. — *Ann. intern. Med.*, 1964, 61, 4, 609.
18. Goh Kong-O O. — *Arch. intern. Med.*, 1968, 122, 241.
19. Heath C. W., Bennett J. M., Whang-Peng J., Berry E. W., Wiernick P. H. — *Blood*, 1969, 32, 3, 453.
20. Houston E. W., Ritzmann S. E., Lewin W. C. — *Blood*, 1967, 29, 2, 214.
21. Hsu T. C. — Genetic Cytology, in Cell and Tissues in Culture, vol. 1, Ed. E. N. Wilmer, Academic Press, Londra, 1965.
22. Hsu T. C., Arrighi F. E. — Chromosomes Anomalies and Chromosome Structure, in The Chromosome, Symposium, Miami, 1965.
23. Jacobs P. A., Strong J. A. — *Nature (Lond.)*, 1959, 183, 302.
24. Kato H., Sandberg A. A. — *J. nat. Cancer. Inst.*, 1968, 41, 5, 1 117.
25. Kiosoglou K. A., Mitus W. J., Dameshek W. — *Blood*, 1965, 25, 5, 662.

26. Kiossoglou K. A., Mitus W. J., Dameshek W. — *Blood*, 1966, 28, 241.
27. Lawler S. D. — Plenary Session Papers, XII Congress, Intern. Soc. Hemat., New York, 1968.
28. Lejeune J., Gauthier M., Turpin R. — *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1959, 248, 1721.
29. Lyon M. F. — *Amer. J. hum. Genet.*, 1962, 14, 135.
30. Mancinelli S., Durant J. R., Hammack W. J. — *Blood*, 1969, 2, 225.
31. Mellander Y. (citată de R. Turpin, J. Lejeune) — *Les chromosomes humains*, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.
32. Milcu Șt. M., Maximilian C. — *Genetică umană*, Ed. științifică, București, 1966.
33. Mitus W. J., Coleman N., Kiossoglou K. A. — *Arch. intern. Med.*, 1969, 123, 193.
34. Nichols W. W., Levan A., Hall B., Östergren G. — *Hereditas (Lund)*, 1962, 48, 367.
35. Nichols W. W. — *Hereditas (Lund)*, 1965, 54, 101.
36. Nicolau C. T., Nicoară St. — *Med. internă (Buc.)*, 1964, 16, 10, 1 153.
37. Nielsen J., Friedrich U., Tsuboi T. — *Brit. med. J.*, 1969, 3, 634.
38. Nowell P. C., Hungerford D. A. — *Science*, 1960, 132, 1 497.
39. Painter T. S. (citată de R. Turpin, J. Lejeune) — *Les chromosomes humains*, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.
40. Patou K., Smith D. W., Therman E., Inhorn S. L., Wagner A. — *Lancet*, 1960, 1, 790.
41. Patou K. — *Lancet*, 1961, 2, 600.
42. Patou K. — *Identification of Chromosomes, Human Chromosome Methodology*, Ed. J. J. Yunis, Academic Press, New York, 1965.
43. Preda V. — *Determinarea și diferențierea sexuală la vertebrate*, Ed. Acad. R. S. România, București, 1968.
44. Rapp F., Hsu T. C. — *Virology*, 1965, 25, 3, 401.
45. Renwick J. H., Lawler S. D. — *Ann. hum. Genet.*, 1955, 10, 312.
46. Renwick J. H., Lawler S. D. — *Ann. hum. Genet.*, 1963, 27, 67.
47. Robson E. B., Sutherland I., Harris H. — *Ann. hum. Genet.*, 1966, 29, 325.
48. Robson E. B., Polani P. E., Dart S. J., Jacobs P. A., Renwick J. H. — *Nature (Lond.)*, 1969, 223, 5 211.
49. Sanger R., Race R. R. — *Heredity*, 1958, 12, 512.
50. Sergovich F., Valentine G. H., Chen A. T. L., Kinch R. A. H., Smout M. S. — *New Engl. J. Med.*, 1969, 280, 851.
51. Schmid W. — *Autoradiography of Human Chromosomes in Human Chromosome Methodology*, Ed. J. J. Yunis, Academic Press, New York, 1965.
52. Smith D. W., Focter J. M., Ferrier P. E., Frias J. L., Spock A. — *Lancet*, 1968, 2, 309.
53. Sparkes R. S., Motulsky A. G. — *Ann. intern. Med.*, 1967, 67, 1, 132.
54. Stahl F. (citată de H. Swift) — *The Chromosome, Symposium, Miami*, 1965.
55. Steele M. W. — *Nature (Lond.)*, 1969, 221.
56. Stich H. F., Hsu T. C., Rapp F. — *Virology*, 1964, 22, 439.
57. Stich H. F., Van Hoosier G. L., Trentin J. J. — *Exp. Cell. Res.*, 1964, 34, 400.
58. Swift H. — *The Chromosome, Symposium, Miami*, 1965.
59. Tjio J. H., Levan A. — *Hereditas (Lund.)*, 1956, 421.
60. Turpin R., Lejeune J. — *Les chromosomes humains*, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.
61. Uchida I. A., Holunga R., Lawler C. — *Lancet*, 1968, 2, 1 045.
62. Watson J. D. — *Molecular Biology of the Gene*, Ed. W. A. Benjamin, New York, 1965.
63. Williams E. D., Engel E., Taft P. D., Forbes A. P. — *J. Med. Genet.*, 1966, 3, 51.
64. Winikarter H. (citată de R. Turpin, J. Lejeune) — *Les chromosomes humains*, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.

APLICAREA PRINCIPIILOR BIOLOGIEI MOLECULARE ÎN PATOLOGIA UMANĂ

I. Manta și Gh. Jebeleanu

I. INTRODUCERE

Acceptând că domeniul biologiei moleculare este ansamblul de cunoștințe care permite explicarea fenomenelor biologice esențiale în termenii interacțiunii între structuri moleculare, putem împărți schematic fenomenele patologice în două grupe mari:

1. În *prima grupă* se încadrează acele cazuri în care, deși „instrumentele activităților biologice elementare”, respectiv proteinele, păstrează o structură obișnuită „normală”, factorii prezenți la un moment dat împiedică validarea activității lor. Între acestea, cele mai caracteristice sînt diversele tipuri de inhibiție competitivă (cu substratul sau cu coenzima) și necompetitivă a enzimelor.

Tot în această grupă se încadrează biosinteza în cantitate insuficientă a proteinelor (enzimelor), ca urmare a lipsei „unităților de construcție”, respectiv a aminoacizilor, lipsei coenzimelor naturale sau epuizării resurselor energetice. Parțial, aceste două prime subgrupe s-ar încadra sub termenul de „leziune biochimică”, așa cum a fost introdus de Peters (54) cu ocazia prezentării inhibiției ciclului tricarboxilic prin acid fluoracetic și prin lipsă de vitamina B₁. O ultimă subgrupă ar cuprinde dereglarea activității diverselor enzime, ca o consecință a modificării arhitecturii moleculare a organitelor celulare (dependentă la rîndul ei de o serie de factori fizici și chimici).

Ca o caracteristică generală a acestei grupe este reversibilitatea, chiar în anumite limite ale fenomenelor, cu alte cuvinte posibilitatea sintezei proteinelor respective (enzimelor) cu o structură „normală” și în cantitățile necesare, îndată ce factorii care interferează au fost îndepărtați.

În prezent se acumulează într-un ritm din ce în ce mai rapid tot mai multe date de genul celor descrise mai sus pentru diversele entități în patologie umană.

Deoarece scopul nostru nu este o trecere în revistă, aspectele conceptuale necesare interpretării fenomenelor din această primă grupă fiind în parte



prezentate și făcînd parte din cunoștințele devenite de mult timp clasice în biochimia medicală, în cele ce urmează nu ne ocupăm de acest gen de cunoștințe decît ocazional.

2. În cea *de-a doua grupă*, asupra căreia ne-am propus o privire mai detaliată, intră acele afecțiuni în care lipsa unei activități enzimatice se datorează unei structuri alterate sau unei lipse de sinteză condiționată genetic (1, 28, 49, 58).

Este evident că privită astfel patologia moleculară formează o unitate. Există numeroase exemple în care enzima sau proteina, a cărei structură este modificată din cauze genetice, reușește totuși să îndeplinească satisfăcător activitatea caracteristică în condiții obișnuite. Prin modificarea condițiilor, însă, enzima afectată se poate să nu mai aibă aceeași eficacitate ca cea normală. Este cazul sensibilității la succinilcolină în cazul unei variante de pseudocolinesterază serică sau la anumite medicamente antimalarice (Primaquin) pentru indivizii în a căror globule roșii glucozo-6-fosfatdehidrogenaza obișnuită este înlocuită de o variantă mai puțin eficientă. De multe ori, aceiași factori, acționînd prelungit sau cu intensitate mai mare, pot să producă un tablou similar chiar în prezența unei enzime normale. De exemplu, diversele substanțe oxidante capabile să ducă la methemoglobinemie vor afecta atît indivizii normali, cît și pe cei sensibili (prin lipsă de sisteme reducătoare sau prin modificări structurale ale hemoglobinei), dar evident, cantitatea necesară într-un caz și în celălalt va fi mult diferită. În felul acesta atingem o altă problemă, aceea a individualității biochimice, adică a răspunsului particular pentru fiecare individ la aceiași factori. Acest aspect va forma subiectul unui alt capitol. Am dori în cele ce urmează să subliniem faptul că patologia moleculară este un domeniu al biologiei moleculare unde se aplică aceleași principii fundamentale. O bună parte din dovezile aduse în decursul timpului pentru aceste principii provin tocmai din datele furnizate de patologia moleculară. În sfîrșit, multe din problemele nerezolvate ale patologiei promet să contribuie la descoperirea unor aspecte fundamentale sau la completarea celor vechi.

Revenind la clasificarea de mai sus reamintim că ceea ce caracterizează afecțiunile încadrate în grupa a doua este condiționarea genetică a uneia (sau mai multor) deficiențe enzimatice (sau a altui tip de activitate biologică a proteinelor).

II. CONCEPTUL „O GENĂ — O ENZIMĂ” ȘI „ERORILE ÎNNĂSCUTE ALE METABOLISMULUI”

La sfîrșitul secolului al XIX-lea devenise larg acceptată printre geneticieni ideea că ceea ce se moștenește ereditar este, în ultimă instanță, un anumit tip de metabolism. Nu se știa nici prin ce substanțe se realizează această transmisie și nici cum se ajunge la validarea modelului metabolic parental la descendenți. Dacă prima din aceste precizări a trebuit să aștepte experiențele de transformare prin ADN a lui Avery și colab. (3), cea de-a doua a

devenit suficient de clară prin interpretarea dată în 1908 de medicul englez A. E. Garrod citorva boli ereditare, rar întâlnite la om (21).

Ceea ce studia A. E. Garrod era metabolismul diverselor substanțe la bolnavii suferinzi de boli ereditare. Pentru una din aceste boli, *alcaptonuria*, se putuse evidenția că bolnavii excretau prin urină în cantități mari un compus care în contact cu aerul se înnegrea, acidul 2,5-dihidroxifenilacetic sau alcaptonul. Acest compus era cunoscut ca o treaptă intermediară în lanțul de reacții prin care este catabolizată fenilalanina și tirozina. În 1902, Bateson arătase că boala se transmite după legile lui Mendel și este recesivă la heterozigoți (cit. 38). A. E. Garrod a interpretat aceste fapte ca o lipsă a activității enzimei care catalizează transformarea mai departe a alcaptonului, lipsă condiționată genetic. Totodată a creat termenul de „erori congenitale de metabolism” pentru acest gen de afecțiuni, prevăzând descoperirea unor situații similare în alte entități studiate de el. Dezvoltarea acestor idei și dovezile culese au fost înmănușate de A. E. Garrod într-o carte purtând titlul de „*Inborn Errors in Metabolism*”. Înainte de apariția celei de-a doua ediții a acestei cărți (1923), în 1914, chimistul german O. Gross (26) a arătat că serul bolnavilor de alcaptonurie nu conține enzima care oxidează acidul 2,5-dihidroxifenilacetic prezentă în serul indivizilor normali. Cu această dovadă experimentală se pare că până la formularea conceptului „o genă = o enzimă” nu mai era decît un pas. Totuși, raritatea cazurilor, insuficiența mijloacelor de investigație și, probabil, lipsa de înțelegere a semnificației generale a acestor afecțiuni la om a dus la o întîrziere de aproximativ 30 de ani în formularea conceptului amintit (cit. 61).

„O genă = o enzimă” a devenit clar abia după lucrările lui B. Ephrussi (17) asupra transmiterii ereditare a colorantului ochilor de la *Drosophila*, dar mai ales după lucrările lui G. W. Beadle și E. L. Tatum (6) asupra genelor care controlează metabolismul metioninei la ciuperca *Neurospora*. Tot în această perioadă se numără și o serie de lucrări ale lui Bonner, Lindergrén, Horowitz și Erb pentru diverse gene de *Neurospora* (cit. 5) care controlează prezența anumitor etape din metabolismul diverselor substanțe. Prin aceste lucrări se stabilea o corespondență evidentă între genă și o enzimă, prezența unei anumite etape fiind condiționată de prezența unei anumite gene nealterate.

Acest început a fost urmat la scurt timp de obținerea de numeroși mutanți pe diverse microorganisme, în care era blocată o etapă sau alta din diversele metabolisme. Acești mutanți puteau fi deosebiți prin aceea că pretindeau prezența în mediul de creștere a substanței ce nu putea fi sintetizată, datorită blocajului metabolic, sau prin acumularea de precursori ai etapei blocate. În consecință, pe lângă serviciile aduse de studiul acestor mutanți geneticii biochimice, ei au fost deosebit de utili în descifrarea soartei anumitor substanțe în procesele metabolice.

Similar au fost evidențiate, pe măsura acumulării cunoștințelor de biochimie și a disponibilităților metodologice, din ce în ce mai multe boli cu transmisie genetică, a căror caracteristică esențială era blocarea a cîte unei etape din lanțurile de transformări ce au loc în organismul uman. Numărul diverselor entități evidențiate astfel se ridică la aproape 150 și este în con-

tinuă creștere (cit. 58). Blocările evidențiate vizează aproape totalitatea căilor metabolice cunoscute.

După cum era de așteptat, nu s-au evidențiat boli în care să fie blocată vreo etapă din căile vitale de metabolism, de exemplu glicoliza, ciclul acizilor tricarboxilici, fosforilarea oxidativă, și este foarte probabil că asemenea blocări nici nu sînt compatibile cu viața.

Caracterizarea bolilor ereditare de metabolism începe de obicei cu evidențierea acumulării unui metabolit sau a lipsei unui produs important pentru organism. Destul de multe din entitățile descrise se găsesc încă în această fază de cunoaștere. Pasul imediat următor este evidențierea activității enzimatice deficitare ca un caracter care se transmite la descendenți. O dată aceasta stabilită, boala poate fi încadrată definitiv între „erorile înnăscute de metabolism”. Desigur cunoașterea bolii merge mai departe, dar din motive care vor reieși mai târziu ne oprim deocamdată aici, unde, de altfel, se opresc cunoștințele noastre asupra majorității bolilor înnăscute de metabolism. Cele afirmate le exemplificăm prin două figuri: prima figură schematizează catabolismul fenilalaninei și tirozinei în ficatul de om, cu diversele blocări metabolice evidențiate în anumite boli înnăscute de metabolism (cit. 30, 36, 38). Această schemă a devenit un exemplu clasic și este prezentată sub o formă mereu mai completă, începînd de la Garrod (fig. II, 1).

Fenilalanina este hidroxilată de o enzimă în tirozină, aceasta printr-un proces de transaminare enzimatică trece în acid p-hidroxifenilpiruvic. Acidul p-hidroxifenilpiruvic este oxidat de o oxidază specifică în acid 2,5-dihidroxifenilpiruvic (acidul homogentizinic sau alcaptonul). Prin acțiunea unei oxidaze asupra celei din urmă, ciclul benzenic este desfăcut, rezultatul fiind acidul maleilacetoacetic izomerizat ulterior de maleilacetoaceticizomerază în acid fumarilacetoacetic. Ultimul este desfăcut de o hidrolază în acid acetoacetic și acid fumaric. Din această cale principală se desprind cîteva căi derivate, în parte figurate și în schema prezentată. Astfel, de la fenilalanină există o derivare, datorită unei transaminaze, spre acid fenilpiruvic și mai departe la acid fenilactic, fenilacetic și fenilacetilglutamină. De la tirozină pornește procesul de sinteză a melaninei prin intervenția tirozinazei, care hidroxilează tirozina în dioxifenilalanină (DOPA) și DOPA-chinonă, de unde prin cîteva etape intermediare se ajunge la melanină (alte procese care pornesc de la tirozină, cum ar fi biosinteza tiroxinei și a adrenalinei, nu sînt luate în discuție în schema de față). Blocajul notat cu A reprezintă eroarea înnăscută de metabolism în fenilcetonurie (oligofrenie fenilpiruvică). Boala a fost descrisă prima dată de Fölling, în 1934, ca o afecțiune cu deficit mintal, în care bolnavii excretau cantități mari de acid fenilpiruvic (20). G. A. Jervis a arătat apoi că boala se transmite cu un caracter autosomal recesiv (1939) (cit. 36). Tot G. A. Jervis (34) a fost cel care a indicat etapa blocată din metabolism, pentru ca apoi, în 1935, să pună în evidență lipsa de activitate fenilalaninhidroxilază în ficatul bolnavilor. Lipsa activității acestei enzime explică devierea metabolică pe o cale secundară, pornind de la fenilalanină. Este prima boală la care au putut fi demonstrate prezicerile făcute de Garrod.

Pentru blocajul B, situația este mai puțin clară. El a fost presupus de către G. Mendes și colab. (43) ca existent la bolnavii de tirozinoză, o boală

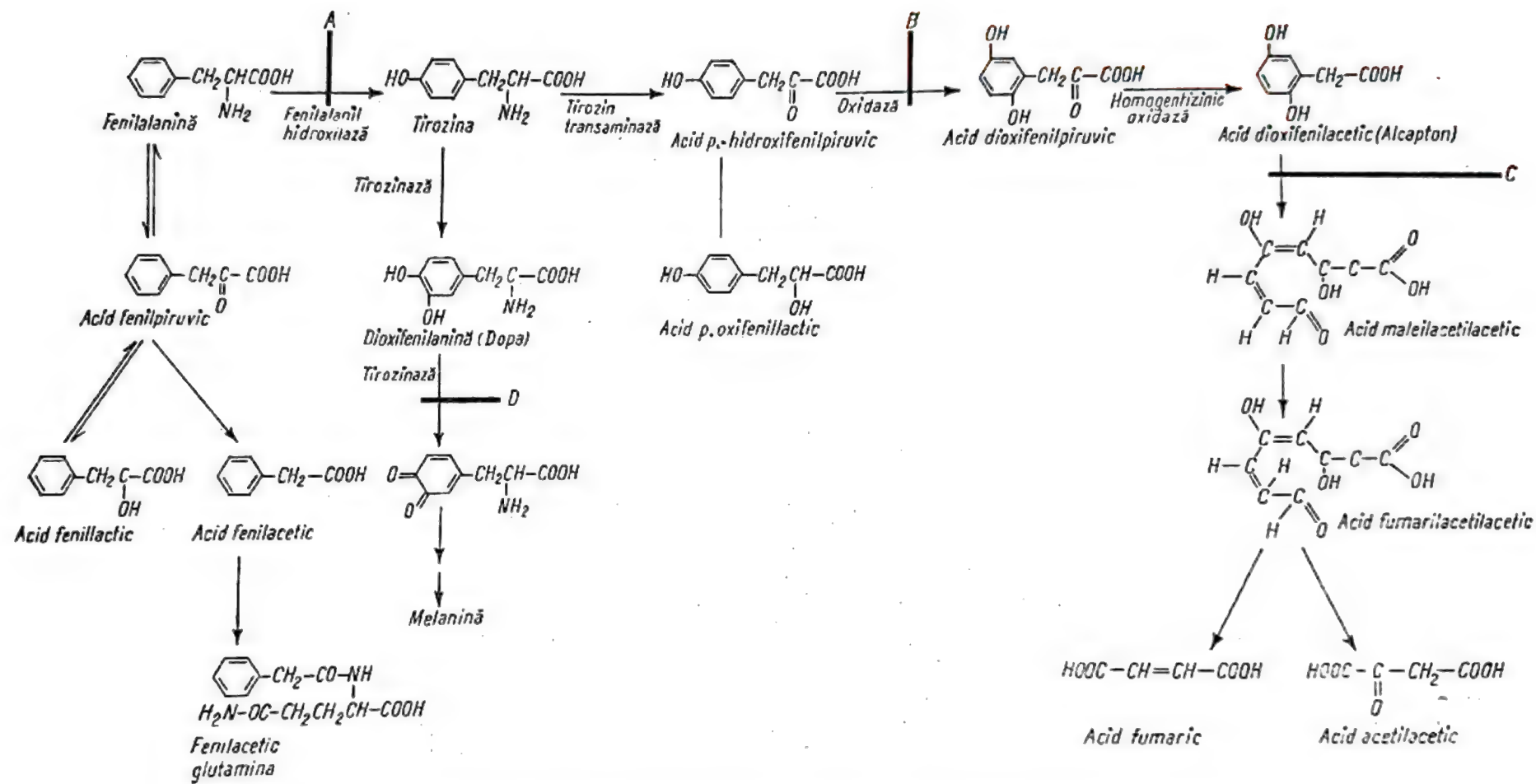


Fig. II, 1. Blocările metabolice ereditare din lanțul de catabolism al fenilalaninei.

în care bolnavii excretă cantități mari de acid p-hidroxifenilpiruvic. Există însă îndoieli mai ales că deficitul enzimatic nu a fost evidențiat prin dozări biochimice în ficatul bolnavilor. Acidul p-hidroxifenilpiruvic ar putea proveni și din alte căi metabolice. S-ar părea însă că acest tip de blocaj există într-o altă boală, *tirozinemia*, descrisă de J. Gentz (22), în care pe lângă defecte multiple în reabsorbția tubulară renală a diverselor substanțe, hepatomegalie cu ciroză nodulară și rahitism vitamino-D-rezistent, se găsește constant un nivel crescut al tirozinei, acidului p-hidroxifenilpiruvic și p-hidroxifenilactic (derivat din primul) în sânge și urină. Activitatea enzimei, p-hidroxifenilpiruvic-acid-oxidază, a fost găsită absentă în ficatul acestor bolnavi (cit. 39).

Pentru blocajul C, găsit în alcaptonurie, am amintit deja suficiente lucrări. Ar mai fi de adăugat că această boală se cunoaște de mult, probabil din antichitate, datorită îmbrunirii urinei în contact cu aerul, deficitul în activitatea acidhomogentizinoxidazei putând fi demonstrat în ficatul și rinichii bolnavilor (cit. 38).

În sfârșit, blocajul notat cu D ar putea să se găsească în albinism, ca o consecință a deficienței în activitatea tirozinazei (19).

În figura următoare sînt schematizate căile metabolismului care duc la biosinteza celor trei clase mari de hormoni steroizi (glucomineralo și masculini) în corticosuprarenala umană, împreună cu o serie de blocări metabolice evidențiate în ultimul deceniu la bolnavii cu diverse variante ale sindromului adrenogenital, congenital (59) (fig. II, 2).

Fără a intra în detalii biochimice, se poate observa în schemă că pornind de la un compus derivat din colesterol (încă necunoscut), în corticosuprarenală se formează pregnenolonă și dehidroepiandrosteronă. De la pregnenolonă, prin mai multe etape intermediare, în care intervin în ordine 3β -dehidrogenaze, 21-steroidhidroxilaze și 11β -steroidhidroxilaze, pe lângă alte enzime, se ajunge la compușii mineralocorticoizi (dezoxicorticosterona, dezoxicortizolul și aldosterona) și glucocorticoizi (cortizona, cortizolul, corticosterona, compușii cu C 21). De la dehidroepiandrosteronă prin cîteva etape, în una în care intervin și trei steroiddehidrogenaze, se ajunge la hormonii masculini ai corticosuprarenalei, respectiv androsteronă (compuși cu C 19).

Blocarea cea mai frecvent întâlnită este cea datorită activității deficitare a 21-steroidhidroxilazelor. Această blocare a fost la început evidențiată prin eliminarea de compuși de catabolism ai steroizilor care se găsesc înaintea etapei blocate (în special pregnantriol) în urina bolnavilor cu sindrom adrenogenital (G. F. Marrian, 1935) (9). A urmat apoi evidențierea lipsei din urina acestor bolnavi a steroizilor cu o grupare — OH în C 21 (C. J. Migeon și L. I. Gardner, 1951) (44), demonstrarea acumulării de precursori ai corticosteroidurilor hidroxilați în C 21 (în special 17-hidroxiprogesteron) (A. M. Bongiovanni, 1958) (12) și lipsa steroizilor C 21 hidroxilați în glandele suprarenale ale acestor bolnavi (16). În sfârșit, s-a dozat activitatea 21-steroidhidroxilazelor, observîndu-se o marcată lipsă de activitate. Se pare că lipsa de activitate a acestor enzime nu este chiar absolută, putînd fi sintetizate mici cantități de hormoni. Nivelul scăzut al hidrocoizonului face ca ACTH să fie secretat în exces, de unde hiperplazia glandelor suprarenale și producerea crescută de hormoni masculinizați care explică virilismul. Lipsa de sinteză a hor-

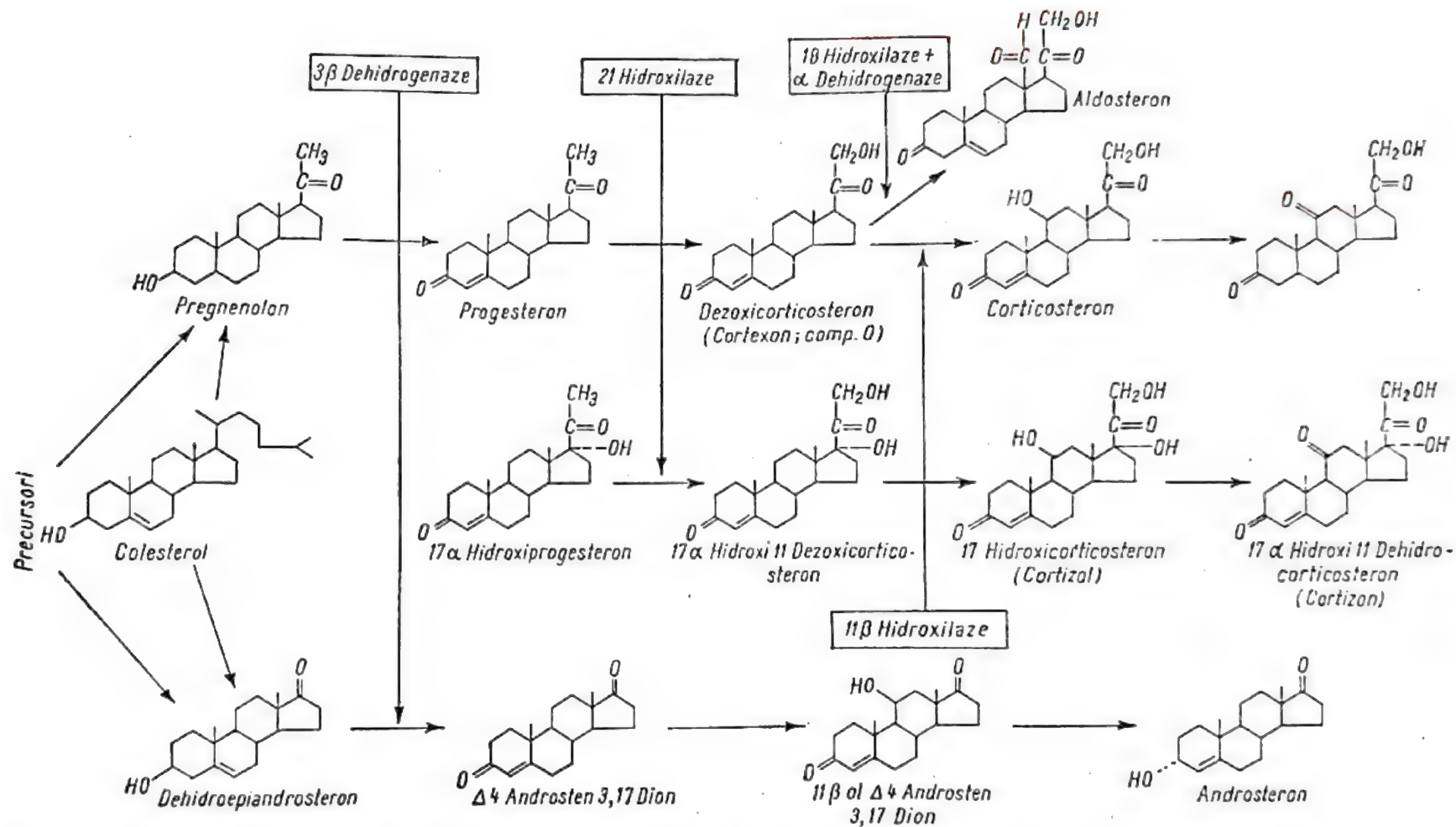


Fig. II, 2. Căile biosintezei hormonilor steroizi în corticosuprarenală și erorile înnăscute ale metabolismului descoperite pînă în prezent.

monilor mineralocorticoizi duce la pierderea de sare observată în multe din cazurile de sindrom adrenogenital. Similar a fost evidențiat un blocaj metabolic la nivelul 11-steroidhidroxilazelor, ceea ce duce la lipsa de sinteză a glucocorticoizilor cu secreție crescută de ACTH, consecutiv la hiperplazia glandei corticosuprarenale, la secreția crescută de mineral-corticoizi și hormoni androgeni. În aceste cazuri, bolnavii prezintă o hipertensiune marcată, datorată excesului de dezoxicorticosteronă. Ei elimină prin urină, în cantități mari produșii de catabolism ai steroizilor suprarenali (care nu sînt hidroxilați în C 11) și de loc 11-OH, 17-cetosteroizi. Ultima etapă blocată prezentată în schemă este cea a 3 β -steroiddehidrogenazelor, care a fost evidențiată într-o formă gravă a sindromului adrenogenital (A. M. Bongiovanni, 1961) (15). Bolnavii elimină cantități mari de Δ_5 , 3 β -hidroxisteroizi, dar care nu provin din catabolismul normal al corticosteroizilor. Dovada finală a fost adusă de A. S. Goldman și colab. În 1964, care au reușit să demonstreze histo- și biochimic lipsa de activitate a 3 β -steroiddehidrogenazelor (25, cit. 40).

Aceste exemple au fost date cu intenția de a prezenta modul de urmărire a unei deficiențe metabolice înăscute. Ceea ce pare comun pentru toate afecțiunile descrise este faptul că nu putem preciza cum anume se ajunge din cauze genetice la o activitate enzimatică deficitară. După cum vom vedea, răspunsul la această întrebare poate fi diferit.

III. CONCEPTUL DE „UN CISTRON — O POLIPEPTIDĂ” ȘI CEL DE „BOALĂ MOLECULARĂ”

Cu aproximativ două decenii în urmă, genetica moleculară se găsea în fața aceleiași dileme și anume, în ce fel se condiționează genetic activitatea unei enzime.

A trebuit mai întâi să devină clar că o anumită activitate biologică a unei proteine se datorează unei secvențe de aminoacizi a acesteia. Acest lucru a putut fi dedus abia după lucrările lui Sanger, care a stabilit secvența insulinei.

Aproximativ în același timp, L. Pauling și colab. (50), într-o lucrare care reprezintă o piatră de boltă în biologia moleculară, a indicat că ceea ce se transmite ereditar în anemia falciformă este o structură modificată a hemoglobinei. Acest lucru este dovedit de migrarea electroforetică diferită a hemoglobinei anormale, numită Hb. S (de la *sickle-cell anemia*) față de cea obișnuită, Hb. A. Cu această ocazie, L. Pauling a creat termenul de „boală moleculară”, definit mai târziu ca o boală datorită alterării activității unei proteine ca urmare a modificării structurii sale din cauze genetice.

Introducerea unei metode noi, așa-numita tehnică a amprentelor digitale¹, de către V. M. Ingram (31), a dat posibilitatea evidențierii faptului că hemo-

¹ Metoda amprentelor digitale a lui V. M. Ingram este de fapt o cromatografie pe hîrtie, urmată de o electroforeză la 90° față de prima operație, a peptidelor rezultate din hidroliza cu tripsină a proteinei (respectiv hemoglobinei) denaturate. Se obține după relevare o distribuție caracteristică a petelor, o hartă care poate fi comparată cu distribuția în cazul proteinei normale.

globina S diferă de cea normală prin înlocuirea acidului glutamic cu valină într-un anumit loc din moleculă. Corelând această descoperire cu cunoștințele anterioare se putea spune că transmiterea ereditară a unei proteine cu activitate biologică alterată se explică prin transmiterea ereditară a unei secvențe de aminoacizi modificată față de cea obișnuită.

Ceva mai târziu s-a stabilit, prin lucrările lui Fraenkel-Conrat de urmărire a modificărilor în secvența proteinei de înveliș la V.M.T. (virusul mozaicului tutunului), consecutive tratării cu HNO_2 a acizilor nucleici extrași din virus, că în mod cert modificarea secvenței aminoacizilor în proteine se datorește unei alterări a structurii materialului genetic (cit. 63).

Totodată prin numeroase lucrări s-a stabilit că molecula hemoglobinei nu este formată dintr-un lanț polipeptidic unic, ci din patru, două câte două identice. Înlocuirea acidului glutamic cu valina amintită mai sus pentru Hb. S se limita de fapt la o anumită poziție din lanțurile de tip β , cele de tip α , fiind identice cu cele din Hb. A (cit. 27, 32).

Prin urmare, dacă unei anumite gene îi corespunde o anumită secvență de aminoacizi, hemoglobinei trebuia să-i corespundă de fapt două „gene”, câte una pentru fiecare din cele două tipuri de lanțuri polipeptidice din molecula tetramer. Două regiuni genetice trebuia să corespundă de asemenea și pentru o enzimă studiată de Yanofsky la *Esch. coli* și *Neurospora*, triptofansintetaza (68).

Aceste date se corelau foarte bine cu cele obținute de S. Benzer (7) prin analiza genetică a mutanților bacteriofagului T 4 pentru gena rII. El demonstrase că această genă are două regiuni, independente ca transmisie genetic, dar ambele necesare pentru exprimarea caracterului controlat de gena rII. Asemenea regiuni au fost denumite *cistron*. Similar, mutațiile care afectau secvența de aminoacizi în una din subunitățile triptofansintetazei se transmiteau la descendenți, după recombinare, independent de mutațiile care afectau secvența în cea de-a doua.

S-a dedus în mod logic că fiecare cistron specifică secvența de aminoacizi pentru un anumit tip de lanț polipeptidic, gena unei proteine (înțeleasă ca unitate de transmisie ereditară a unui caracter ereditar elementar) fiind formată din tot atâția cistroni câte tipuri de lanțuri polipeptidice intră în alcătuirea unei molecule din proteina respectivă. De aici formularea „un cistron — o polipeptidă”.

Aplicarea acestui principiu a putut fi făcută după un timp mult mai riguros, cunoscându-se sistemul de codificare a secvenței aminoacizilor în acizii nucleici, respectiv corespondența succesiune de codoni în ADN — succesiune de aminoacizi în lanțurile polipeptidice.

În lumina acestor date a devenit clar faptul că lipsa unei activități enzimatice oarecare nu înseamnă neapărat o lipsă de sinteză a proteinei respective. Se poate foarte bine ca datorită unei mutații, proteinele care rezultă să aibă o structură astfel modificată încât să nu mai permită o activitate enzimatică sau să o prezinte cu o eficiență foarte mică. Izolarea unei enzime cu structura modificată genetic este, în cazul special al eronilor înnăscute ale metabolismului la om, o problemă dificil de realizat din numeroase motive.

Mult mai bine stau lucrurile însă pentru diversele variante de hemoglobină, a căror izolare a început prin lucrările lui L. Pauling și V. M. Ingram, amintite mai sus. Hemoglobina este, din punctul de vedere al activității, greu de separat de caracteristicile enzimelor. Ea a și fost denumită „enzimă onorifică”. Fiind ușor de izolat, se cunoaște astăzi nu numai secvența de aminoacizi pentru lanțurile α și β , datorită lucrărilor lui M. F. Perutz, dar și structura sa spațială. Sînt cunoscute de asemenea secvențele de aminoacizi în lanțurile δ și γ , care înlocuiesc pe cele de tip β în hemoglobina fetală F și în hemoglobina minoră normală A_2 .

La începutul anului 1969 erau caracterizate mai mult de 100 de diverse hemoglobine (cit. 49, 52, 57). Precizarea este poate necesară, căci descrierea unor variante noi de hemoglobină se petrece la un interval uimitor de scurt. Dintre aceste variante, 35 sînt pentru lanțul α , aproximativ 58 pentru β , 4 pentru γ și 5 pentru lanțurile de tip δ . Majoritatea dintre aceste variante, similare cu Hb. S, constau în înlocuirea în secvența unuia din tipurile de lanțuri a aminoacidului, găsit în mod normal, cu un alt tip de aminoacid. S-au descris în ultimul timp însă și variante în care alterarea genetică a secvenței nu urmează această „regulă”. Este vorba, pur și simplu de lipsa unei porțiuni din secvența de aminoacizi normală, ceea ce în termeni genetici se indică sub numele de deleție. Așa este Hb. Freiburg în care lipsește valina 23 din lanțurile β și Hb. Gun Hill în care lipsesc nu mai puțin de cinci aminoacizi între pozițiile 91 și 97 ale lanțurilor γ .

Trebuie specificat faptul că dintre aceste hemoglobine doar aproximativ o treime sînt cauzatoare de boli moleculare.

Reușind să construiască un model al hemoglobinei, pe baza datelor obținute prin studii cristalografice cu raze Röntgen la rezoluție de 2,8 Å, Perutz M. F. și colab. (53) au urmărit apoi pe acest model rezultatul diverselor modificări de secvență în variantele de hemoglobine cunoscute. În felul acesta au fost indicate modificările de structură spațială și în bună parte s-au putut corela aceste modificări cu proprietățile fizico-chimice și semnificația lor patologică. Se poate astăzi înțelege de ce o înlocuire de aminoacizi are în unele cazuri consecințe asupra activității și în altele nu (52).

Astfel se știa că hemul este factorul principal care asigură stabilitatea structurii fiecărui lanț polipeptidic din molecula tetramer a hemoglobinei. Reamintim că în esență, fiecare lanț, indiferent de tip (α , β , γ , sau δ), are 8 regiuni helicoidale notate cu A, B, C etc. pînă la H și 7 regiuni nehelicoidale, „bucle” sau „coturi”, situate între regiunile helicoidale notate cu AB, BC, CD etc. Indiferent de felul lanțului, resturile laterale ale aminoacizilor care privesc spre interiorul cavității delimitate de cele 15 regiuni sînt apolare. Hemul se găsește într-o cavitate, „buzunarul hemului”. El este ancorat printr-o legătură coordonativă între fierul său și o histidină din regiunea F (His F 8), histidina proximală, și prin 60 de interacțiuni cu diverse resturi laterale, în mare parte polare, ale aminoacizilor care tapetează „buzunarul”. Între acestea din urmă, o mențiune specială acordăm unei histidine din regiunea E (His E 7), histidina distală. Între cele patru lanțuri se stabilesc legături necovalente prin grupări complementare. Deosebim contacte între subunitățile identice ($\alpha - \alpha$ și $\beta - \beta$) și între subunități neidentice $\alpha - \beta$, iar între acestea din urmă între α_1 și β_2 pe diagonală și între α_1 și β_1 pe verti-

cală. Contactele între subunitățile neidentice joacă un rol deosebit pentru cooperarea între cei patru hemi, prinderea unei molecule de O_2 pe unul din ei crește afinitatea celorlalți, legarea unei a doua molecule crește și mai mult afinitatea hemurilor rămase etc. — și în efectul Bohr (caracterul mai acid al hemoglobinei oxigenate).

Revenind la consecințele înlocuirilor de aminoacizi între cei care vin în contact cu hemul, se constată că majoritatea acestor înlocuiri nu sînt compatibile cu o activitate normală a

hemoglobinei. Între acestea un loc deosebit îl ocupă acele variante de Hb., în care este înlocuită una din histidinele în relație cu hemul.

În hemoglobinele Hb M. Boston și Hb. M. Saskaton sînt înlocuite histidinele distale, His E 7, respectiv în prima în lanțurile α și în a doua în lanțurile β , cu cîte o tirozină (fig. II, 3). Aceasta face ca pe de o parte să fie blocat accesul oxigenului la Fe hemului datorită inelului aromatic al tirozinei mai mare, iar pe de altă parte, datorită stabilirii unei legături de hidrogen între —OH fenolic din tirozină și Fe, să fie favorizată forma Fe^{3+} . Consecințele sînt o cianoză marcată și methemoglobinemie.

Înlocuirile hemoglobinei proximale, His F 8, în lanțurile α din Hb. M. Iwate și în lanțurile β în Hb. M. Hyde Park are consecințe structurale deosebite. Pe de o parte evident se pierde legătura care lega Fe hemului de poziția F 8, pe de altă parte Fe se va lega covalent de His din E 7. În același timp —OH fenolici ai tirozinelor introduse dau

legături ionice cu hemul, stabilizînd forma Fe^{3+} . Accesul O_2 este blocat cu consecințe clinice, cianoză și methemoglobinemie.

În sfîrșit, înlocuirea chiar a unor resturi ce dau legături destul de slabe cu hemul, cum ar fi înlocuirea fenilalaninelor Fen CD 1 cu cîte o valină în lanțurile ale Hb. Torino sau în lanțurile β ale Hb. Hammersmith are urmări serioase. Fenilalaninele schimbate vin în mod normal în contact cu hemul prin doi atomi de C din ciclul benzenic, pierderea acestor contacte prin înlocuirea cu valină, deci cu un rest lateral mult mai scurt, lasă o groapă la suprafața buzunarului pentru hem, permițînd pătrunderea moleculelor de apă. De aici, destabilizarea întregii structuri (majoritatea resturilor laterale din buzunar fiind apolare) a lanțurilor respective. Clinic apare o anemie cu corpusculi de incluziune (prin precipitarea Hb.).

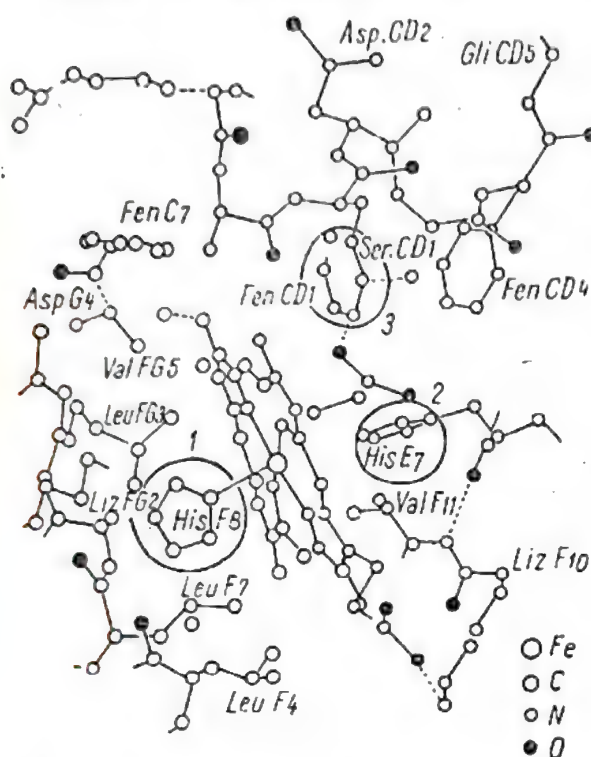


Fig. II, 3. Aminoacizii care vin în contact sau dau legături cu gruparea hem în hemoglobină. Sînt notate prin cifre: 1) Histidina proximală, F 8; 2) Histidina distală, E 7; 3) Fenilalanina, CD 1. Pentru înlocuirile acestor aminoacizi și hemoglobine, variante genetice cu semnificație patologică, vezi textul.

O altă serie de înlocuiri cu consecințe structurale și funcționale deosebite, o formează acele care se petrec pentru aminoacizii ce mențin contactele între subunitățile diferite, respectiv contactele de tip $\alpha_1-\beta$, și cele de tip $\alpha_1-\beta_2$ (fig. II, 4).

Să analizăm pentru început câteva exemple de înlocuiri în regiunea de contact de tipul $\alpha_1-\beta_1$. Înlocuirea în lanțurile β la Hb. E a acidului gluta-

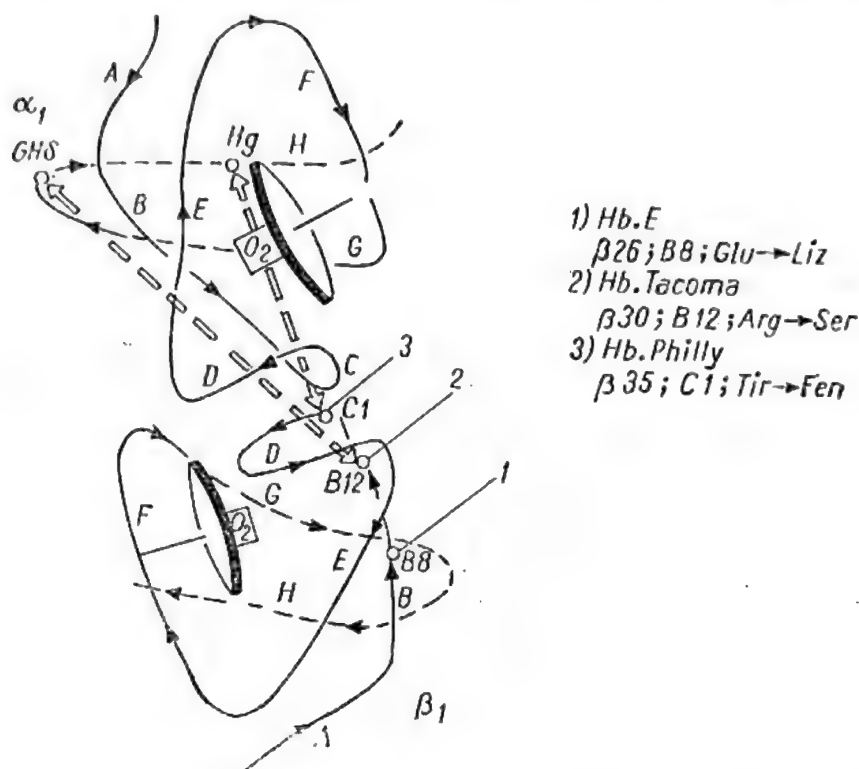


Fig. II, 4. Câteva din legăturile de tip $\alpha_1 \beta_1$ care mențin subunitățile hemoglobinei asociate și unele din înlocuirile resturilor de aminoacizi implicați, în diferite hemoglobine, variante cu semnificație patologică.

mic B 8 cu lizină duce la distrugerea unui sistem întreg de legături de hidrogen, destabilizând helixul B. Această destabilizare produce și pierderea unei legături de H, în mod normal prezentă între Arg B 12 din lanțul β și poziția GH 5 din lanțul α . Ruperea acestei legături este capabilă să facă semnificativ mai ușoară disocierea moleculei în monomeri. Totodată afinitatea pentru oxigen a Hb. E este mult mai mică decât a Hb. A. Consecința clinică a instabilității moleculelor tetramer de Hb. este o anemie hemolitică ușoară. O situație asemănătoare se întâlnește pentru Hb. Tacoma, în care arginina B 12 este înlocuită cu o serină în lanțurile β . În felul acesta, legătura de hidrogen între gruparea amino din restul lateral al argininei B 12 cu poziția GH 5 din α_1 nemaiputându-se forma se ajunge la o tendință spre disociere în monomeri. În Hb. Philly, înlocuirea unei tirozine, tir C 1, din lanțurile β cu o fenilalanină are drept consecință pierderea unei legături de H în contactele $\alpha_1-\beta_1$ stabilite între $-OH$ tirozinei și poziția H 9 din lanțurile α_1 . Este favorizată

disocierea la monomeri, care are drept consecință clinică o ușoară anemie hemolitică.

În ceea ce privește înlocuirile în regiunile ce stabilesc contacte de tip $\alpha_1-\beta_2$ se pare că consecințele funcționale vor fi altele. Astfel, înlocuirea în lanțurile α a argininei din poziția FG 4 cu o glutamină în Hb. J. Capetown și cu o leucină în Hb. Chesapeake duce la pierderea a două legături Van der Waals, existente în Hb. normală între Arg. Fig 4, din lanțurile α și câte o

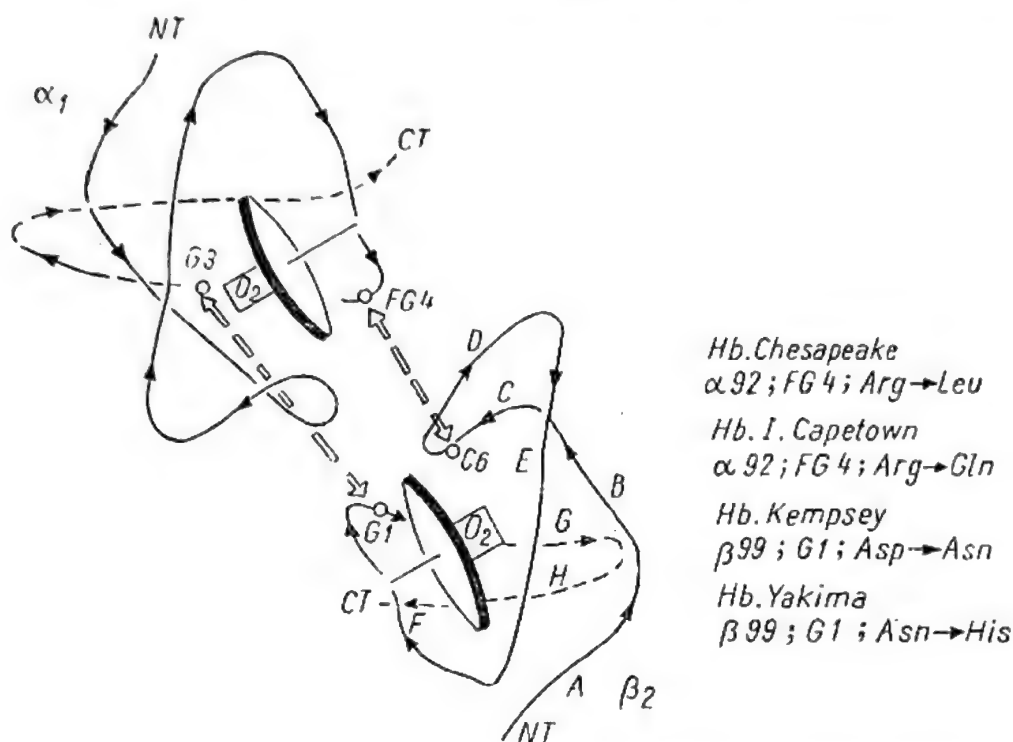


Fig. II, 5. Contacte de tip $\alpha_1 \beta_2$ și unele înlocuiri în variante genetice ale hemoglobinei cu semnificație patologică.

Arg, în lanțurile β (Arg C 6) aflate în diagonala (fig. II, 5). Această pierdere aduce o afinitate mai mare pentru oxigen și pierderea interacțiunilor hem-hem (cooperării). Consecința clinică este o poliglobulie care compensează tendința hemoglobinei de a reține oxigenul. În hemoglobinele Kempsey și Yakima sînt înlocuite resturile de acid aspartic din pozițiile C 1 ale lanțurilor β : în prima cu asparagină, în a doua cu histidină. Pierderea unui contact în Hb. normală, stabilit între Asp G1 din β_2 și Val G 3 din α_1 , are drept consecință funcțională o afinitate crescută pentru oxigen și pierderea cooperării între grupările hem. Este destul de ciudat faptul că toate aceste patru hemoglobine prezintă un efect Bohr normal. Se credea că efectul Bohr și cooperarea între grupările hem sînt fenomene care se petrec simultan și sînt datorite structural deplasării lanțurilor în timpul oxigenării hemoglobinei. Toate repercusiunile funcționale discutate pînă acum, cum sînt creșterea afinității pentru oxigen (sau scăderea acesteia), abolirea cooperării între grupările hem, pun destul de evident problema necesității unui nou capitol al

biologiei moleculare, acela al repartizării energiei în interiorul unei macromolecule în timpul activității acesteia.

În sfârșit, o ultimă serie de înlocuiri de secvență evidențiată grupată de M. F. Perutz, sub termenul de înlocuiri în poziții generale. Între acestea există exemple care indică consecințele dezastruoasei înlocuiri a unui aminoacid cu rest lateral apolar, care privește spre interiorul cavității descrisă de regiunile helicoidale ale lanțurilor (Hb. Wien, β 130 H 8 Tir-Asp), în care

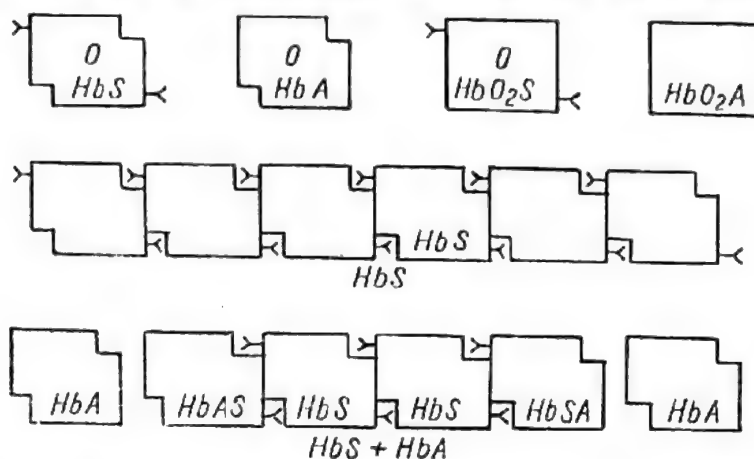


Fig. II, 6. Schema agregării moleculelor de Hb. S., în stare desoxigenată [după M. F. Perutz (52)]. Prin desoxigenare se modifică forma moleculei Hb., astfel că în cazul lanțurilor β^S se evidențiază un rest lateral de aminoacid care găsește un loc complementar pe o moleculă vecină etc.

Hb. este instalabilă și duce la o anemie hemolitică severă, sau introducerii unei proline în locul unui aminoacid care poate participa la structuri helicoidale (Hb. Genova β 26, B 10 Leu-Pro). Introducerea unei proline în locul leucinei din poziția B 10 (destabilizarea helixului B) conduce la anemie cu corpusculi de incluziune. Între acestea un loc deosebit îl ocupă Hb. Gun Hill în care lipsesc aminoacizii din cinci poziții consecutive în lanțurile β tocmai într-o regiune în care se găsește histidina proximală, His F. 8, numeroasele resturi care vin în contact cu hemul, altele stabilind legături între subunități. Consecința este pierderea hemului din lanțurile tetramerului și disocierea lui ceea ce se traduce clinic printr-o anemie hemolitică severă. În sfârșit, tot în această categorie se găsește și clasică Hb. S. Consecința înlocuirii acidului glutamic din poziția A 3 a lanțurilor β cu o valină este formarea de paracristale prin agregarea moleculelor de Hb. S. în stare desoxigenată în șiraguri lungi, așa cum au fost observate la microscopul electronic. Această agregare este explicată de M. F. Perutz prin aceea că desoxigenându-se hemoglobina își schimbă conformația (evidențiată la Hb. de cal), restul de valină introdus găsimu-și un loc complementar pe o a doua moleculă de Hb. S., de care se leagă prin interacțiuni slabe. Aceasta repetă mecanismul pentru a lega o a treia moleculă, o a patra moleculă etc. (fig. II, 6). M. Murayama (46) crede că valina care a înlocuit acidul glutamic din B 6 formează un intrînd prin alăturarea hidrofobă a restului de valină, normal la capătul N-terminal al lanțului. Agregarea moleculelor de Hb. S. desoxigenată duce la formare de paracristale (tactoizi) lungi de 1—16 μ (29), care modifică profund struc-

tura internă a hematiei (41, 64) și forma ei în consecință. Ca urmare crește mult viscozitatea sîngelui și posibilitatea de a provoca ocluzii cu consecințele lor (infarcte, necroze suprainfectate) atît de caracteristice bolii (46). În stare oxigenată, locul complementar nu există, fiind mascat de aranjarea subunităților.

Această trecere în revistă, poate puțin cam lungă, deși cuprinde doar oțeva din Hb. analizate de M. F. Perutz, are drept scop să pună în evidență stadiul cunoștințelor actuale referitoare la modificarea genetică a secvenței de aminoacizi într-o proteină activă.

În rezumat putem deci înțîlni următoarele situații:

a) Afectarea activității prin modificarea secvenței în centrul activ al proteinei.

b) Modificarea proprietăților și a activității ca urmare a unei schimbări de structură tridimensională a unui lanț polipeptidic.

c) Alterarea activității prin modificarea secvenței aminoacizilor interesați în contactele dintre subunități și în procesele de cooperare (pentru enzime, procesele alosterice).

d) Extinzînd într-o oarecare măsură concluziile, ne putem aștepta ca modificarea anumitor resturi laterale într-o proteină mai complexă să ducă la imposibilitatea agregării ei în structurile organitelor celulare. Aceasta ar putea avea ca efect modificarea activității tuturor celorlalte proteine de care se leagă (vezi 47).

Datele asupra structurii tridimensionale a proteinelor se acumulează foarte repede. Se cunosc astăzi pentru o serie de enzime modele deosebit de detaliate construite pe baza difracției cu raze Röntgen la puteri mari de rezoluție. Aceste date au putut fi corelate cu mecanismul de acțiune dedus anterior indirect (60). Cu siguranță, în viitorul nu prea îndepărtat, vom cunoaște și structura enzimelor interesate în erorile congenitale de metabolism, deși deocamdată nu știm nici pentru una măcar secvențele de aminoacizi.

Pentru aceste proteine situația este similară cu cunoștințele pe care le aveam în 1949 asupra hemoglobinelor anormale.

De fapt cunoaștem astăzi cîteva variante de enzime normale diferite, ca proprietăți fizico-chimice (cum ar fi mobilitatea electroforetică, afinitate pentru substrat și inhibitori, pH optim, termolabilitate) sau ca proprietăți imunochimice, de corespondentele lor obișnuite. O parte din aceste variante au semnificație patologică, așa cum sînt variantele de pseudocolinesterază serică sensibile la relaxantul muscular succinilcolină (cea Dibucain și cea fluorurorезistentă) (cit. 42) sau pentru aceeași enzimă variantele ce și-au pierdut complet sau parțial activitatea catalitică (24). Variante cu semnificație patologică ocazională sînt și cîteva din cele descoperite pentru glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza eritrocitară (G-6-PD). Această enzimă este deosebit de importantă în economia metabolică a hematiei furnizînd NADPH_2 , care este necesar reducerii methemoglobinei formate în mod continuu, fiziologic, precum și menținerii grupărilor —SH din proteinele de structură și funcționale ale hematiilor. Solicitarea acestor procese de oxidoreducere se poate petrece în diverse ocazii: toxice, medicamente methemoglobinizante, medicamente de tipul Primaquinului, toxice vegetale (favism), infecții microbiene sau virale. Indivizii ale

căror hematii conțin una din aceste variante de G-6-PD normale, cu o activitate mai scăzută, manifestă o anemie hemolitică indusă. Au fost descrise de asemenea mai multe variante ale G-6-PD, care dau o anemie hemolitică congenitală nesferocitară. Diferențele se manifestă și prin alte proprietăți, cum sint pH optim, afinitatea pentru glucozo-6-fosfat, stabilitatea termică, migrația electroforetică¹ (cit. 1, 8). Asemănător se cunosc variante genetice anormale cu semnificație patologică pentru piruvatkinaza eritrocitară (48, 64) și methemoglobinreductază (65).

Pare deci că și pentru enzime este valabil principiul potrivit căruia lipsa unei activități nu este totdeauna egală cu lipsa de sinteză a proteinei respective, ci, probabil, de cele mai multe ori, prin apariția unor variante genetice ale lanțurilor polipeptidice, cu caracteristici structurale capabile să altereze activitatea catalitică. Există în general în literatură părerea că pe măsură ce vor fi cercetate mai în amănunt cauzele erorilor înnașcute de metabolism, cu atât mai des ne vom întâlni cu variante genetice de acest gen.

De altfel, precizarea modificărilor structurale în variantele genetice ale enzimelor nu este cu mult diferită de acest stadiu nici la bacterii.

Din genetica moleculară se știe că genele nu codifică numai enzime, ci și proteine cu alte semnificații funcționale. În domeniul patologiei moleculare au fost descrise de curând entități cauzate de modificări ale secvenței de aminoacizi, prin condiționarea genetică pentru tipuri de molecule proteice neenzimatică. Prima se referă la un defect de coagulare a sîngelui, transmis genetic, datorit unei modificări de structură a fibrinogenului. Varianta genetică poartă numele de Fibrinogen Detroit și a fost descrisă de B. Blomback și colab. (11). Această echipă de cercetare lucrează de mai mulți ani la stabilirea secvenței de aminoacizi pentru lanțurile care compun molecula fibrinogenului. În urma dovezilor aduse, molecula fibrinogenului este formată din două jumătăți identice. Fiecare jumătate este formată din trei tipuri de lanțuri polipeptidice: α (A), β (B), și γ , toate trei fiind cu capetele N terminale în aceeași parte. Secvența acestor capete N terminale a fost determinată pe o porțiune de cîteva zeci de poziții (fig. 11, 7 partea înnegrită). Prin acțiunea proteazică a trombinei din capătul N terminal a lanțurilor α (A) și β (B) se eliberează peptidele respective, A și B. În restul secvenței, capetele N terminale conțin într-o regiune scurtă aproape toate cisteinele din lanțurile respective. Intre aceste cisteine se stabilesc punți —S—S— care leagă lanțurile într-un nod. În felul acesta, modelul dedus prin datele microscopiei electronice devine mai inteligibil, aglomerările sterice de la capete reprezentînd nodurile disulfidice N terminale pentru fiecare din cele două jumătăți, iar cea din mijloc unirea jumătăților în regiunea capetelor C terminale ale lanțurilor, prin legături a căror natură nu ne este deocamdată cunoscută.

În fibrinogenul de tip Detroit în locul glicocolului din poziția 19 a lanțului α (A) se găsește o serină. Înlocuirea nu împiedică acțiunea trombinei, dar, se pare, că dezorganizează formarea nodurilor N terminale și astfel împiedică agregarea moleculelor de fibrinogen în fibrină. O indicație asupra modificării structurii spațiale în această moleculă este faptul că fibrinogenul Detroit con-

¹ Vezi și Capitolul „Individualitatea biochimică”.

ține mai puțin zaharid legat de lanțul γ (legarea zaharidului se face foarte probabil între pozițiile 46 și 53) decât fibrinogenul de la indivizii normali.

O a doua entitate este așa-numita boală a lanțurilor grele. Cei câțiva bolnavi la care a fost descrisă prezentau limfadenopatie generalizată, splenomegalie, anemie și o tendință marcată la contractarea de diverse infecții bacte-

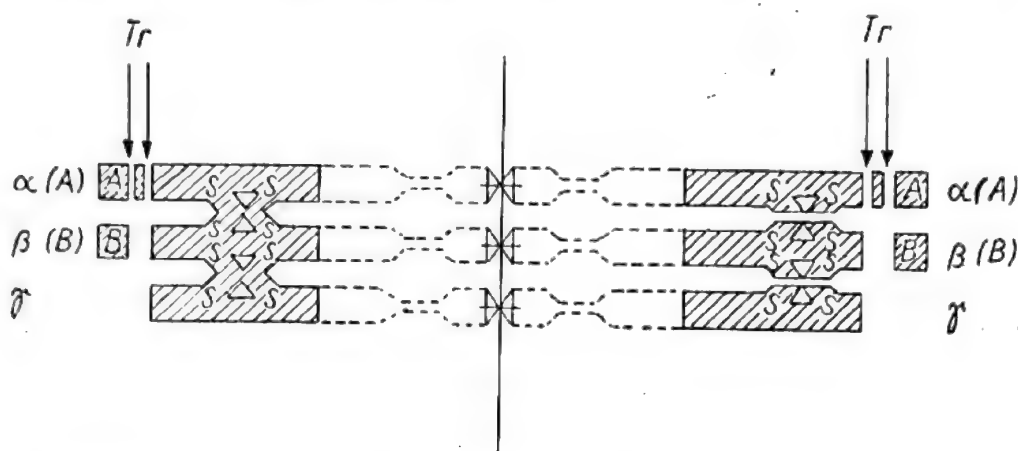


Fig. II, 7. Schema moleculei de fibrinogen [după B. Blombäck și colab. (11)]. De remarcat punțile —S—S— care unesc cele trei lanțuri.

riene. Ei eliminau prin urină în mod continuu lanțuri grele γ de globuline nelegate de lanțuri ușoare. Investigația structurii acestor lanțuri, făcută de către J. W. Prahl (55) a arătat că ele conțineau porțiunea C terminală din lanțurile grele identică cu cea a lanțurilor respective din γ -globulinele normale. De asemenea, o secvență scurtă din capătul N terminal al acestor lanțuri grele patologice este identică cu cea a lanțurilor obișnuite. Diferența ar consta tocmai în lipsa regiunii din secvența de aminoacizi care conține cisteinele pentru punțile

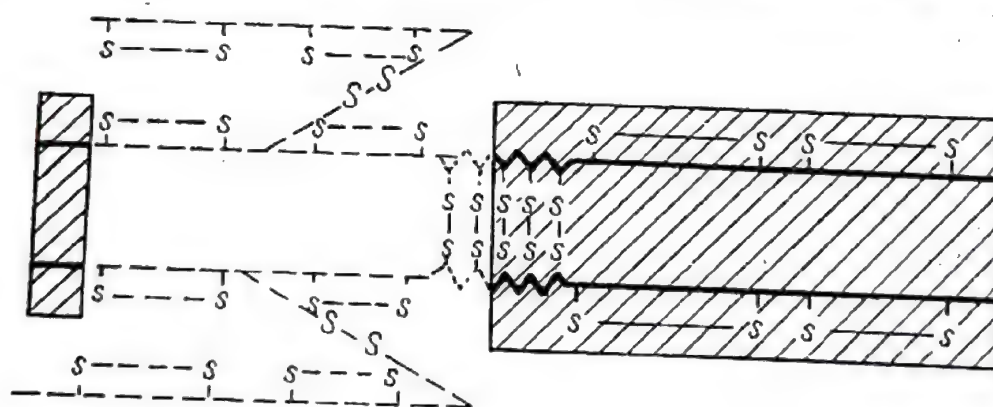


Fig. II, 8. Schema regiunii pierdute din secvența normală a γ -globulinelor în boala lanțurilor grele, [după J. W. Prahl (55)].

—S—S— ce leagă lanțurile ușoare în globulinele normale. Absența acestei regiuni din secvență s-ar explica printr-o deleție (fig. II, 8) (porțiunea punctată = regiunea deleției).

A fost descrisă recent o proteină care din date imunologice pare să fie un factor VIII modificat, la cîțiva bolnavi de hemofilie A (18). Similar au fost descrise cazuri de hemofilie B, la care factorul IX (PTC) pare să fie sintetizat, dar cu o structură nefuncțională (56).

În sfîrșit, izolarea în stare purificată a globulinei de legare a tiroxinei (TBG), o proteină serică de transport a hormonului, a făcut posibilă precizarea că în anumite cazuri de „deficiență” a acesteia se sintetizează o secvență modificată, fără proprietăți fiziologice, care păstrează însă determinanții imunologici obișnuiți. Asemănarea între situația întîlnită pentru aceste proteine și cea descrisă de Yanofsky, de exemplu, pentru anumite proteine de la mutații de *Neurospora*, care nu mai păstrau activitatea enzimatică normală, dar dădeau reacții imunologice înorucșate cu enzimele obișnuite („proteine” CRM, de la *cross reacting material*) (68), este evidentă.

Din cele discutate pînă acum reiese faptul că mutațiile care afectează genele ce codifică secvențele de aminoacizi în lanțurile polipeptidice ale proteinelor cu diverse activități (gene de structură) pot avea drept consecință producerea unor proteine alterate funcțional¹. Modificarea minimă de structură capabilă să altereze activitatea unei proteine este, vorbind în termeni de structură tridimensională, pierderea a 1—2 din miile de legături necovalente care se găsesc în molecula proteinei. Se poate presupune că în foarte multe din „erorile înnăscute de metabolism”, lipsa de activitate enzimatică, evidențiată în diversele etape ale căilor metabolice, se datorează tocmai unor asemenea structuri proteice modificate care nu-și mai îndeplinesc funcția.

Trebuie însă să admitem că dacă nu toate, așa cum se credea pînă nu de mult, cel puțin o parte din deficiențele de activități metabolice deficitare se pot datori unei lipse de sinteză a enzimelor respective, adică absenței lor reale din celule.

IV. CONCEPTUL OPERONULUI ȘI MUTAȚII PE GENE REGLATOARE

Lipsa de sinteză a unor enzime în diverse condiții metabolice și sinteza lor în altele, la *Esch. coli* a constituit faptul de la care au plecat F. Jacob și J. Monod (33) în cercetările lor și i-au condus la modelul de reglare a biosintezei proteice la bacterii.

După acest model, genele de structură pentru enzimele aceluiași lanț metabolic se găsesc ordonate una după alta. Intrarea lor în „activitate” este condiționată de lipsa blocării unei regiuni de la începutul grupului, numită operator. Operatorul este blocat de o substanță, astăzi cunoscută ca fiind o

¹ Situația de fapt este, cel puțin teoretic, ceva mai complicată. Este posibil de întrevăzut ca anumite tipuri de mutații pe gene de structură să ducă la o lipsă de sinteză a proteinei respective (cum este cazul unei mutații pe „codonul de inițiere” prezent la capătul fiecărei gene), la sinteza numai a unei părți din lanțul polipeptidic (în cazul unei mutații ce produce pe parcursul genei un codon „non-sens”) sau la o proteină complet modificată ca structură începînd cu un anumit aminoacid din secvență (în cazul unei mutații cu „schimbarea cadrului de citire”).

proteină, numită represor, condiționată genetic la rîndul ei de o genă reglatoare.

Represorul are două tipuri de locuri de legare — două specificități — unul pentru legarea sa de secvența nucleotidelor caracteristică operatorului, cel de-al doilea pentru cuplarea unor metaboliți specifici din mediu. După cum prin legarea acestor metaboliți represorul își schimbă forma, el se leagă mai ușor sau mai greu de operator. În unul din cazuri, represorul se poate lega de operator doar după combinarea sa cu un corepresor, reprezentat de multe ori prin produsul ultimei enzime din lanțul metabolic condiționat de tot grupul de gene de structură. Este cazul sistemelor represibile. În alt caz, prin combinarea represorului cu un metabolit numit inductor, se pierde capacitatea de a se lega de operator. Inductorul este adesea prima substanță din lanțul metabolic specificat de genele de structură din operon.

Mutațiile pe gene reglatoare pot duce, după caz, la:

a) Modificarea regiunii prin care represorul leagă corepresorul, consecința fiind imposibilitatea activării necesare prinderii pe operator și sinteza continuă a proteinelor codificate de genele de structură.

b) Modificarea regiunii prin care represorul se prinde de operator, în consecință datorită lipsei continui de blocare a genelor de structură, urmează sinteza continuă a proteinelor respective.

c) Modificarea regiunii prin care represorul prinde inductorul, datorită lipsei de inactivare a represorului; sinteza proteinelor respective este blocată tot timpul.

De remarcat că în timp ce primele două tipuri de mutații vor fi, în cazul celulelor diploide, mutații recesive, cel de-al treilea va fi dominant, ceea ce contează fiind existența unor molecule de represor capabile să se lege de regiunea operator.

Mutațiile în regiunea operator care duc la modificarea acestuia astfel încît să nu mai poată fi recunoscută de represor conduc la o deblocare continuă a genelor de structură cu sinteza consecutivă a proteinelor respective. Trebuie remarcat că acest tip de mutații este dominant (sau parțial dominant) într-o celulă diploidă, fiind suficient să funcționeze unul din cei doi operoni prezenți pentru sinteza enzimelor respective.

Acest model al operonului are meritul de a fi indicat pentru prima dată în ce mod se poate ajunge de la mutații la prezența în cantități diferite de normal a unor enzime. Aplicarea lui *ad literam* la celulele superioare este imposibil de făcut și pentru moment este prudent să rămînem doar cu imaginea că există și în aceste celule gene de control a căror mutație duce la modificarea cantității de proteine sintetizate nu și a structurii lor.

Există fapte din domeniul erorilor congenitale de metabolism, care amintesc de cele găsite în urmărirea mutațiilor în genele reglatoare la bacterii. Astfel se știe că pentru multe sisteme de bacterii, în condiții de represie completă a genelor din operon, se găsesc totuși activități enzimatică de ordinul a 0,01—2% din activitatea enzimelor respective în condiții de inducție maximă. Activități de același ordin au fost găsite în anumite tipuri de erori înnăscute de metabolism la om, cu toate că structura enzimelor deficitare a fost găsită normală. Este cazul activității catalazei din hematiile unor bolnavi de acatala-

zemie și a xantinoxidazei în ficatul celor afectați de xantinurie. De aici sugestia unor mutații pe genele reglatoare similare celor amintite anterior la punctul (c) (cit. 1, 58).

O situație, în care analogia cu sistemele bacteriene pare și mai evidentă, este cea întâlnită în oroticacidurie. La acești bolnavi, activitățile a două enzime din calea de sinteză a pirimidinnucleotidelor, respectiv orotidin-5'-fosfatpirofosforilaza și orotidin-5'-fosfatdecarboxilaza sînt prezente în cantități mai mici de 1% din normal. Aceasta explică blocajul metabolic cu acumulare de acid orotic. Pe de altă parte, structura enzimelor respective este normală astfel încît situația nu se poate explica decît printr-o lipsă de sinteză. Similar, la *Esch. coli*, cele două enzime se găsesc pe același operon, iar mutații pe gena reglatoare duc la represia lor simultană continuă (37).

Un defect de reglare se bănuiește și în diferitele tipuri de talazemie. Cum biosinteza lanțurilor α este independentă de a celorlalte, o blocare a genei lor duce la tipurile de α -talazemie, în care se găsesc hemoglobinele anormale H (β_4^A) și Barts ($\frac{F}{4}\gamma$). O blocare a genei β ar explica sinteza crescută pentru lanțurile δ și de aici producerea de Hb. A_2 în cantități crescute în cazurile de β -talazemie. Aceasta, deoarece genele pentru β și δ se găsesc una după alta, o blocare a lui β ducînd la o hiperactivare a genei anterioare ei, așa cum se observă pentru anumiți operoni bacterieni. În sfîrșit, deoarece după naștere se oprește sinteza lanțurilor γ și începe cea pentru β , este de presupus că genele γ sînt blocate într-un fel oarecare de intrarea în activitate a celor pentru β . În cazul blocării genelor β , biosinteza hemoglobinei Hb. F ($\alpha_2\gamma_2^F$) rămîne nerepresată (cit. 4, 40, 47).

Există de asemenea la bacterii mutații pe genele de control a căror consecință este o hiperinducție a genelor din operon, o situație similară este suspectată în porfiria acută intermitentă pentru prima enzimă din lanțul de biosinteză a porfirinelor (62). Pînă nu de mult se credea că majoritatea erorilor înnăscute de metabolism se datorează lipsei de sinteză a enzimelor respective (49). În sensul celor discutate la subtitlul anterior, nu putem face și astăzi aceeași afirmație cu tot atîta certitudine.

V. PERSPECTIVE

Numărul mereu în creștere a diverselor erori congenitale de metabolism nou descoperite sugerează că acest gen de afecțiuni va putea fi evidențiat cu timpul pentru oricare din etapele diverselor căi cunoscute în metabolism, desigur cu excepția cîtorva căi esențiale (care o dată afectate duc la moarte). Suspectarea unei asemenea afecțiuni poate fi făcută pentru foarte multe boli ereditare cunoscute. Deosebit de eficace este căutarea de erori înnăscute ale metabolismului în bolile psihice și cu deficit mintal, creierul fiind în general un organ foarte sensibil la cele mai mici dereglări ale metabolismelor. O altă categorie mare de boli, la care probabil viitorul va aduce multe precizări, în aceeași ordine de idei, este cea a bolilor endocrinologice. Lipsa de sinteză sau sinteza în cantități crescute a unui hormon duce la un tablou clinic caracteristic, ușor de recunoscut.

Rămâne viitorului un mare volum de muncă în stabilirea etapei enzimatice deficitare în bolile înnăscute de metabolism și în entitățile ce vor fi descoperite. Acest deziderat impune găsirea unor tehnici de dozare a activității enzimelor, rapide, simple și suficient de precise, pentru a fi aplicate pe scară mare. O dată stabilită care anume activitate enzimatică este deficitară, pasul următor este precizarea dacă această deficiență se datorește sintezei unei proteine cu structura modificată sau unei lipse de sinteză, cu alte cuvinte dacă este vorba de o mutație pe o genă structurală sau de control. Dar, așa cum am mai amintit în majoritatea erorilor înnăscute de metabolism, nu se poate face cu certitudine o asemenea precizare. Mutațiile afectează și alte proteine în afara celor cu activitate enzimatică și acestea, la rândul lor, sînt de asemenea un domeniu cu mari posibilități de dezvoltare.

În cazul stabilirii că activitatea deficitară se datorește unei modificări de structură a proteinei respective, va trebui indicată natura acestei modificări sau, cu alte cuvinte, ce schimbări se produc în secvența de aminoacizi a enzimei respective și ce repercusiuni au ele asupra structurii tridimensionale. Evident, acest lucru nu este deloc ușor și probabil va ocupa cîteva decenii. Investigațiile de acest gen se leagă de una din problemele fundamentale ale biochimiei și anume, legătura într-o anumită structură și o anumită activitate. Cu cît se vor acumula mai repede în acest domeniu cît mai multe date, va deveni mai ușor posibilă trecerea la o etapă mai avansată în cunoașterea fenomenelor care stau la baza vieții și anume, înțelegerea schimburilor repartizării energiei ce se petrec în moleculele biologice active.

Rămîne de asemenea deschis un mare domeniu, acela al modului în care sînt reglate genele în celulele organismelor superioare. Cu siguranță că așa cum studierea diversilor mutații la bacterii a dus la modelul operonului, studierea diverselor entități de felul celor amintite va ajuta la înțelegerea specificului celulelor superioare.

Ce s-ar putea spune, din punctul de vedere al biologiei moleculare, despre tratamentul acestor boli? Deocamdată cel mai eficace mijloc este desigur evitarea apariției de homozigoți. Aceasta impune din nou aplicarea pe scară largă a unor metode de dozare sigure, rapide și precise, capabile să evidențieze purtătorii heterozigoți pentru genele respective. Rămîn desigur și mijloacele metabolice, adică evitarea din dietă a compușilor al căror catabolism este împiedicat sau suplimentarea cu produșii imposibil de sintetizat. În anumite cazuri, de lipsă a unor enzime (proteine) din plasmă, este de pe acum posibilă administrarea acestora sub formă de injecții. Pentru o conservare mai îndelungată și datorită lipsei reacțiilor imunologice, enzimele deficitare par a fi cel mai bine de administrat în microcapsule semipermeabile. În acest fel a fost aplicată cu succes o enzimă extrasă din fungi, pentru modificarea uricemiei la oameni (35) și animale (2) sau catalaza pentru tratamentul experimental al șoarecilor acatalazemici (14).

Nu este deloc exclus ca în timp să fie găsite mijloace chimice prin care să poată fi corectată modificarea de structură în proteinezima respectivă sau și mai probabil de activare a genelor represate.

La fel nu pare imposibil de găsit mijloacele prin care să poată fi introduse în celule, cu ajutorul virusurilor, unele gene normale. Deși ultimele

două categorii, cunoscute sub termenul lui Ed. Tatum de chirurgie genetică (23), par de domeniul fanteziei științifice, ele au cel puțin meritul de a stimula cercetarea multor aspecte fundamentale. Mai ușoară ca aplicabilitate în viitorul apropiat ar fi înlocuirea organelor în care este manifestă deficiența enzimatică.

BIBLIOGRAFIE

1. Aebi H. E. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 271.
2. Altman K. I., Shull K., Baron E. S. G. — *Arch. Biochem.*, 1949, 21, 158.
3. Avery O. T., MacLeod C. M., McCarty M. — *J. exp. Med.*, 1944, 79, 137.
4. Baglioni C. — *Molecular Genetics*, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1963, p. 405.
5. Beadle G. W. — *Selected Papers on Molecular Genetics*, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 17.
6. Beadle G. W., Tatum E. L. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1941, 27, 499.
7. Benzer S. — *The Chemical Basis of Heredity*, edit. W. D. McElory, B. Glass, Ed. J. Hopkins, Baltimore — Maryland, 1957, p. 70.
8. Beutler E. — *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 060.
9. Beutler G. C., Marrian G. F. — *J. biol. Chem.*, 1937, 119, 565.
10. Blacwell R. Q., Yang H. J., Wang C. C. — *Biochim. biophys. Acta (Amst.)*, 1969, 175, 273; 1969, 188, 59.
11. Blombäck B., Blombäck M., Henschen A., Hessek B., Iwanga S., Woods K. R. — *Nature (Lond.)*, 1968, 218, 130.
12. Bongiovanni A. M. — *J. clin. Invest.*, 1958, 37, 1 342.
13. Bongiovanni A. M. — *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 860.
14. Chang T. M. S., Poznansky M. J. — *Nature (Lond.)*, 1968, 218, 243.
15. Dintefass L. — *Haematologia*, 1968, 2, 19.
16. Eberlein W. R., Bongiovanni A. M. — *J. biol. Chem.*, 1956, 223, 85.
17. Ephrussi B. — *Quart. Rev. Biol.*, 1942, 17, 327.
18. Feinstein D., Chong M. N. Y., Kasper C., Rapaport S. I. — *Science*, 1969, 163, 1 071.
19. Fitzpatrick T. B., Quevedo W. V. — *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 324.
20. Filling A. — *Z. Physiol. Chem.*, 1934, 227, 169.
21. Garrod A. E. — *Lancet*, 1908, 2, 142.
22. Gentz J., Jagenburg R., Ztterstöm R. — *J. Pediat.*, 1965, 66, 670.
23. Gilman W. — *Science*, The Viking Press, New York, 1965.
24. Goedde H. W., Atland K. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1968, 151, 540.
25. Goldman A. S., Bongiovanni A. M., Yakovac W. C., Prader A. — *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 894.
26. Gross O. — *Biochem. Z.*, 1914, 61, 165.
27. Haggis G. H., Michie D., Muir A. R., Roberts K. B., Walker P. M. B. — *Introducere în biologia moleculară*, Ed. științifică, București, 1968.
28. Harris H. — *Human Biochemical Genetics*, Cambridge University Press, Londra, 1959.
29. Harris J. W. — *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1950, 75, 197.
30. Hsia D. Y. Y. — *Bolile metabolismului*, edit. G. G. Duncan, Ed. medicală, București, 1966, p. 392.
31. Ingram V. M. — *Nature (Lond.)* 1956, 178, 792.
32. Ingram V. M. — *The Biosynthesis of Macromolecules*, Ed. W. A. Benjamin, New York — Amsterdam, 1965.
33. Jacob F., Monod J. — *J. molec. Biol.*, 1961, 3, 318.
34. Jervis G. A. — *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 1953, 82, 514.

35. Kissel P., Lamarche M., Royer R. — *Nature*, (Lond.), 1968, 217, 72.
36. Kuox W. E. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 100.
37. Kuang-Dong Wu, Krooth R. S. — *Science*, 1968, 160, 539.
38. La Du B. N. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 303.
39. La Du B. N. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 295.
40. Lehmann H., Huntsman R. G., Ager J. A. M. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, 1966, p. 1 100 și 1 356.
41. Lewis S. M., Osborne J. S., Stuart P. R. — *Nature* (Lond), 1968, 220, 614.
42. Marshall J. S., Pensky J. — *J. clin. Invest.*, 1969, 48, 508.
43. Mendes G. și colab. — *Biochem. J.*, 1932, 26, 914.
44. Migeon C. J., Gardner L. I. — *J. clin. Endocr.*, 1957, 12, 1 513.
45. Milstein C., Fragione R. — *Nature* (Lond.), 1969, 224, 597.
46. Murayama M. — *Science*, 1966, 153, 145.
47. Nance W. E., Clafin A., Smithies O. — *Science*, 1964, 145, 595.
48. Paglia D. E., Valentine W. N., Baughman M., Miller D. R., Reed C. F., McIntyre O. R. — *J. clin. Invest.*, 1968, 47, 1 929.
49. Parker W. C., Bearn A. G. — *Amer. J. Med.*, 1963, 34, 680.
50. Pauling L., Itano H. A., Singer S. J., Wells I. C. — *Science*, 1949, 110, 543.
51. Perutz M. F. — Proteins and Nucleic Acids, Ed. Elsevier, Amsterdam, — Londra — New York, 1962.
52. Perutz M. F., Lehmann H. — *Nature* (Lond.), 1968, 219, 902.
53. Perutz M. F., Muirhead H., Cox J. M., Goaman L. C. G. — *Nature* (Lond.), 1968, 219, 131.
54. Peters S. A. — Biochemical Lesions and Lethal Synthesis, Ed. Pergamon, Amsterdam — New York — Londra, 1963.
55. Prahl J. W. — *Nature* (Lond.), 1967, 215, 1 386.
56. Roberts H. R., Grizzle J. E., McLester W. D., Penick G. D. — *J. clin. Invest.*, 1968, 47, 360.
57. Schroeder W. A. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1963, 32, 301.
58. Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. S. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 3.
59. Stempfel R. S., Tomkins G. M. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 635.
60. Stryer L. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1968, 37, 25.
61. Taylor J. H. — Selected Papers on Molecular Genetics, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 3.
62. Tschudy D. P., Perroth M. G., Marver H. S., Collins A., Hunter G. Jr., Rechoigl M. Jr. — *Proc. nat. Acad. Sci.* (Wash.), 1965, 53, 841.
63. Tsugita A., Fraenkel-Conrat H. — Molecular Genetics, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1963, p. 477.
64. Valentine W. N., Tanaka K. R. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 051.
65. West C. A., Comperts B. D., Huehns E. R., Kessel I., Ashby J. R. — *Brit. med. J.*, 1967, 4, 212.
66. Wiley J. S. — *Nature* (Lond.), 1968, 31, 561.
67. White J. C. — *Blood*, 1968, 31, 561.
68. Yanofsky C., Helinski D. R., Maling B. D. — *Cold Spr. Harb., Symp. quant. Biol.*, 1961, 26, 11.

INDIVIDUALITATEA BIOCHIMICĂ ȘI BO- LILE MOLECULARE

I. Manta

I. INTRODUCERE

Noțiunea de individualitate este deosebit de familiară pentru medicul de astăzi, indiferent dacă munca sa se desfășoară la patul bolnavului sau în laborator. Sesizată încă de Hipocrate, această noțiune și-a întregit sensul abia în ultimul secol. Importanța ei este relevată de formularea astăzi clasică: „ceea ce tratăm sînt bolnavii și nu bolile“.

Aprofundarea fenomenelor biologice la nivel molecular deschide în prezent calea spre o înțelegere mai completă a individualității și implicit spre o utilitate practică sporită.

Abordarea acestei noțiuni se leagă de aspectul fundamental în biologie, de variabilitatea în cadrul unei specii date.

Știm încă de mult că valorile așa-zise normale pentru diversele dozări chimice în materialele biologice nu pot fi reprezentate printr-o cifră unică, de fiecare dată fiind vorba de o limită superioară și de una inferioară a normalului. În multe cazuri, acest lucru este deosebit de supărător, deoarece valorile găsite în condiții patologice au un domeniu care se suprapune parțial peste cel normal. Un exemplu tipic am putea da pentru valoarea activității pseudocolinesterazice din ser (11). Se știe că enzimele responsabile pentru această activitate sînt sintetizate în ficat și că în unele afecțiuni hepatice, sinteza lor suferă mult înaintea altor semne și se menține deficitară pînă la refacerea funcțională a organului. Aplicabilitatea acestor date este limitată însă, deoarece domeniul valorilor normale este foarte întins, limita superioară fiind mai mult decît dublul celei inferioare, astfel că în multe cazuri, chiar o reducere a sintezei cu 50% nu poate fi stigmatizată cu certitudine ca atare (fig. III, 1). De aici rezultă consecința că pentru a avea o semnificație absolută ar fi necesar să se cunoască valoarea normală a individului respectiv, ceea ce evident este rareori posibil. În cazul altor dozări, situația este poate și mai complexă, fiind vorba de metaboliți în a căror producere intervin mai multe enzime. Desigur, o mare parte din variații sînt date de condițiile diferite în care se găsesc indivizii respectivi (alimentație, activitate fizică, factori fizico-chimici etc.). Nu este mai puțin adevărat însă că se vor obține valori diferite pentru

indivizi diferiți menținuți în aceleași condiții. În acest caz, explicația nu poate veni decât dacă admitem o normă de răspuns înăscută, caracteristică fiecărui individ.

Ceea ce apare din ce în ce mai evident astăzi este că la nivel molecular, individualitatea biochimică se explică prin diferențele minore, transmise ereditar, în structura proteinelor (enzimelor) și în concentrația acestora, care la rândul lor afectează toți parametrii funcțiilor biochimice integrate.

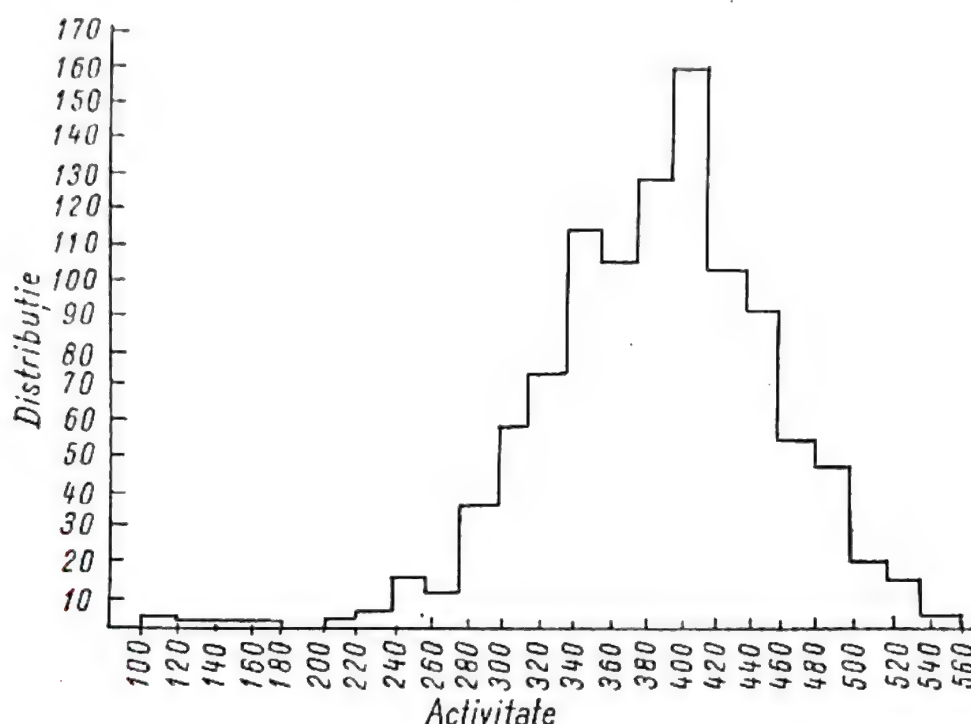


Fig. III, 1. Distribuția valorilor activității pseudocolinesterazei în ser la un număr mare de persoane (2 600) [după datele lui H. W. Neitlich (35)]. În aceeași lucrare a fost găsită și o variantă cu o activitate de 5 ori mai mare decât valorile medii obișnuite.

Ce s-ar putea spune despre mecanismele genetice care stau la baza acestor variante proteice? Fie că este vorba despre modificări de structură, fie că este vorba de concentrații diferite, evenimentul primar este o mutație în primul caz pe o genă de structură, în al doilea pe o genă de control. Gena modificată se transmite la descendenți prin procesele de duplicare a ADN. Totodată, prin procesele de recombinare, în care se schimbă material genetic între cromozomii omologi, caracterul inițial al mutației poate fi modificat. În sfârșit, un alt proces care intervine în variabilitate este distribuția la întâmplare a fiecăruia din cromozomii pereche în timpul diviziunii reductive în cele două celule fiice din care numai una devine o celulă sexuală.

Această formulare este deocamdată, și probabil va rămâne încă destul timp, greu de dovedit în întregime prin exemple bazate pe cifre, datorită

căilor de metabolism atât de ramificate și greutatea inerente studiului structurii enzimelor la om. Probabil va putea fi aplicată cu succes și într-un viitor apropiat pentru substanțele al căror metabolism este limitat la câteva etape, fără ca produsele lor de metabolism să intre în căile comune ale metabolismului. Substanțe de acest gen sînt foarte multe din medicamentele folosite. Pentru o parte dintre acestea s-a putut evidenția un metabolism diferit, în funcție de individualitatea genetică a indivizilor. Pentru a da un exemplu, de curînd, E. S. Vesell și J. G. Page (48) au administrat fenilbutazonă (6 mg/kilocorp) la 7 perechi de gemeni univitelini și bivitelini, urmărind apoi viteza de metabolizare a medicamentului. La gemenii univitelini s-a găsit, în cazul fiecărei perechi, o viteză de metabolizare identică (sau aproape), în timp ce gemenii bivitelini prezentau valori diferite unul de altul. Valorile găsite în general pentru timpul necesar reducerii cu 50% a concentrației fenilbutazonei în sânge variaua între 1,2 și 7,3 zile. Se bănuiește că explicația acestor date constă din diferențele între enzimele hepatice care hidroxilează substanța (la indivizi diferiți) și în identitatea acestor enzime la indivizii genetic identici (gemenii univitelini). Date de acest gen își găsesc încă de pe acum o importanță majoră în terapeutică și în toxicologie. Date similare au fost raportate pentru antipirină (49) și dicumarol (50).

II. VARIABILITATEA PROTEINELOR (ENZIMELOR) LA OM

Rezumînd situația în care se găsesc astăzi cunoștințele noastre putem spune că:

a) fiecare individ prezintă un model metabolic unic în cadrul modelului general al speciei umane;

b) o parte din aceste „individualități” sînt deja caracterizate prin valori și date biochimice;

c) pentru multe dintre ele se poate indica și explicația moleculară, respectiv enzima sau proteina afectată genetic ca structură sau sinteză defectuoasă; de altfel avem numeroase exemple de proteine (enzime) a căror structură este modificată, fără ca prin aceasta să ducă la o modificare metabolică (sau probabil să ducă la una prea mică pentru metodele actuale de investigație). În cele ce urmează ne vom ocupa puțin de acest gen de variante.

În capitolul anterior s-a arătat, cu ocazia discutării hemoglobinopatiilor, că nu orice modificare de structură prin cauze genetice este urmată neapărat de o modificare a activității proteinei respective. Din cele 100 de hemoglobine patologice doar 1/3 sînt capabile să ducă la manifestări clinice. Este necesar ca modificarea structurală să afecteze configurația tridimensională a proteinei în anumite regiuni sau locuri critice, pentru a duce la consecințe asupra activității. În sfîrșit, chiar în cazul unei asemenea modificări, organismul este uneori capabil să compenseze o funcție parțial deficitară, și în condiții care solicită la maximum mecanismele implicate (1).

Variante genetice au fost descrise și pentru anumite enzime. Numărul descoperit de variante pentru acestea este însă cu mult mai mic decît cifra hemo-

globinelor. Nu este însă exclus ca în timp, această diferență să devină mult mai mică, pe măsură ce cercetările se vor extinde.

Un bun exemplu de variante genetice ale unei enzime ni-l oferă situația descrisă pentru lactatdehidrogenază. Din câte știm astăzi o moleculă de enzimă este formată din 4 subunități, care pot să fie de două feluri, combinabile în orice proporție (sau după termenul consacrat „care hibridizează liber“). Cele două tipuri de subunități sînt notate după țesutul în care predomină cu literele H (*heart*=inimă) și M (*muscle*=mușchi). Se pot forma astfel 5 izoenzime, respectiv HHHH, HHHM, HHMM, HMMM, și MMMM, notate după ordinea migrării electroforetice de la anod: LDH₁ (H₄), LDH₂ (H₃M) etc. pînă la LDH₅ (M₄). Fiecărui țesut îi corespunde o anumită concentrație din fiecare izoenzimă, după gradul în care sînt sintetizate cele două tipuri de subunități (33). Fiecărui tip de enzimă îi corespund anumite proprietăți fizico-chimice și caracteristici ale activității diferite de ale celorlalte. Fiecare din cele două tipuri de subunități este codificată de o anumită genă. Au fost găsite la om variante enzimatice datorite unor mutații fie pe gena pentru subunitatea de tip cardiac, fie pe cea pentru tipul muscular (cit. 9, 27, 34). Variantele descoperite diferă de enzimele normale prin migrarea electroforetică. La heterozigoți, unde se sintetizează două tipuri de subunități de tip cardiac (H și H') sau două tipuri de subunități de tip muscular (M și M'), datorită combinării în tetrameri, apar în locul celor 5 izoenzime, un număr de 15, așa cum reiese din schema de mai jos:

Variantă pentru subunitatea de tip cardiac:

HHHH	HHHM	HHMM	HMMM	MMMM
HHHH'	HHH'M	HH'MM	H'MMM	LDH ₅
LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	
HHH'H'	HH'H'M	H'H'MM		
HH'H'H'	H'H'H'M			
H'H'H'H'				

Variantă pentru subunitatea de tip muscular (M'):

	HHHM	HHMM	HMMM	MMMM
HHHH LDH ₁	HHHM'	HHMM'	HMMM'	MMMM'
LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅	
HHHM'	HHM'M'	HMM'M'	HM'M'M'	MM'M'M'
				M'M'M'M'

A fost descrisă însă și o variantă la care subunitatea de tip muscular modificată genetic nu se mai poate combina liber cu subunitatea musculară normală, din totalul izoenzimelor posibile teoretic (în număr de 15) la heterozigoți, neformîndu-se decît o parte (8) și anume cele în care nu se găsesc împreună subunități de tip muscular modificate genetic și normale (cit. 9, 34).

Descrierea de noi variante a devenit posibilă mai ales după introducerea tehnicilor de electroforeză în gel de amidon sau de poliacrilamidă sau pe hîrtie-acetat de celuloză. Aceste tehnici sînt un mijloc relativ simplu de investigație în masă, spre deosebire de tehnicile enzimologice clasice care necesită în prealabil purificarea enzimei respective și urmărirea cineticii de reacție pen-

tru diverse substraturi și inhibitori. Din păcate, tehnicile electroforetice nu pot releva acele variante în care substituția de aminoacizi nu duce la o modificare a sarcinii electrice a moleculei (41).

O altă enzimă la care se cunosc variante este carbonicoanhidraza din hematii. Enzima are o mare importanță pentru schimburile de CO_2 și O_2 și este, după hemoglobină, proteina cu cea mai mare concentrație în hematii. Au fost descrise 2 izoenzime în eritrocit: una care migrează electroforetic mai puternic înspre anod și este mai puțin activă enzimatic, notată cu CA I, și una mai lentă cu o activitate mai puternică, notată cu CA II. Ambele izoenzime se găsesc în mod normal și sînt formate fiecare din cîte un singur lanț polipeptidic cu o greutate moleculară (G. M.) de 30 000, la care este legat un atom de Zn. R. E. Tashian și colab. (46) au descoperit două variante pentru CA I cu o migrare electroforetică mai înceată decît CA I normală. Ele au fost notate în ordinea migrării electroforetice, cea normală cu CA I_a, iar variantele cu CA I_b și CA I_c. Dintre acestea, CA I_c este deosebit de interesantă, deoarece activitatea ei este mai mare decît a enzimei normale. Determinarea parțială a secvenței de aminoacizi a arătat că este vorba de înlocuirea unui rest de glicocol cu unul de arginină înspre capătul C terminal al lanțului polipeptidic (47).

Pînă acum au fost găsite trei variante pentru mioglobina umană (15, 17), proporția fiind aproximativ de o variantă la 500 de indivizi examinați. Pentru una dintre acestea a fost posibil să se stabilească și modificarea de secvență; este vorba de înlocuirea acidului glutamic din poziția 53 (regiunea D 4) cu o lizină (17).

Polimorfismul unei alte enzime, fosfataza acidă în hematii (care diferă de cea prostatică), a fost în ultimul timp un subiect deosebit de fructuos pentru investigații (20). Au fost descoperite, prin studii pe un număr mare de indivizi, 6 modele de migrare electroforetică a enzimelor respective. Acest polimorfism

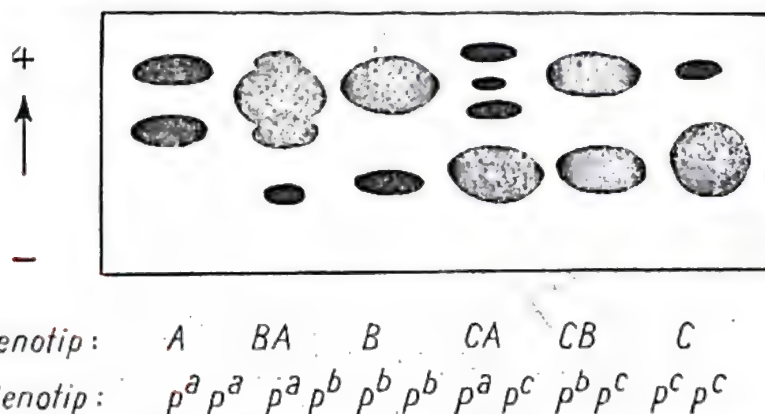


Fig. III. 2. Migrările electroforetice ale diverselor forme de fosfatază acidă eritrocitară în fenotipuri diferite [după H. Harris și colab. (20)].

a fost atribuit prezenței la populație a 3 variante pentru gena care codifică enzima (sau după cum se mai spune în genetică a 3 alele pentru un locus genetic). Variantele respective sînt notate P^a , P^b , și P^c . Fenotipurile posibile sînt cele 3 produse de homozigoți pentru fiecare din alele: $P^a P^a = A$, $P^b P^b = B$,

$P^c P^c = C$ (ultimul este foarte rar) și cele 3 produse de heterozigoți: $P^a P^b = BA$, $P^a P^c = CA$, $P^b P^c = BCB$ (fig. III, 2).

Pentru toate populațiile investigate, frecvența cea mai mare a fost găsită pentru variantele P^a și P^b cu valori însă mult diferite de la o populație la alta, în timp ce alela P^c are o frecvență foarte mică (tabelul I).

TABELUL III, 1

Distribuția alelelor P^a , P^b , P^c în diverse populații

Populația	P^a	P^b	P^c
Japonia	0,39	0,61	—
U.S.A.	0,39	0,55	0,06
Anglia	0,36	0,60	0,04
Germania	0,27	0,72	0,01
Negrii (U.S.A.)	0,23	0,76	0,01
Negrii (Anglia)	0,20	0,80	—
Orientali (U.S.A.)	0,19	0,80	0,01
Brazilia	0,19	0,77	0,03
Tristan da Cunha	0,09	0,91	—
Aborigeni din Australia	0,016	0,984	—

În cazul acestei enzime, diferențele de migrare electroforetică sînt însoțite de diferențe de activitate specifică a fiecărui tip de variantă. Astfel, valorile medii ale activității atribuite pentru cele 3 alele (P^a , P^b , P^c) se găsesc într-un

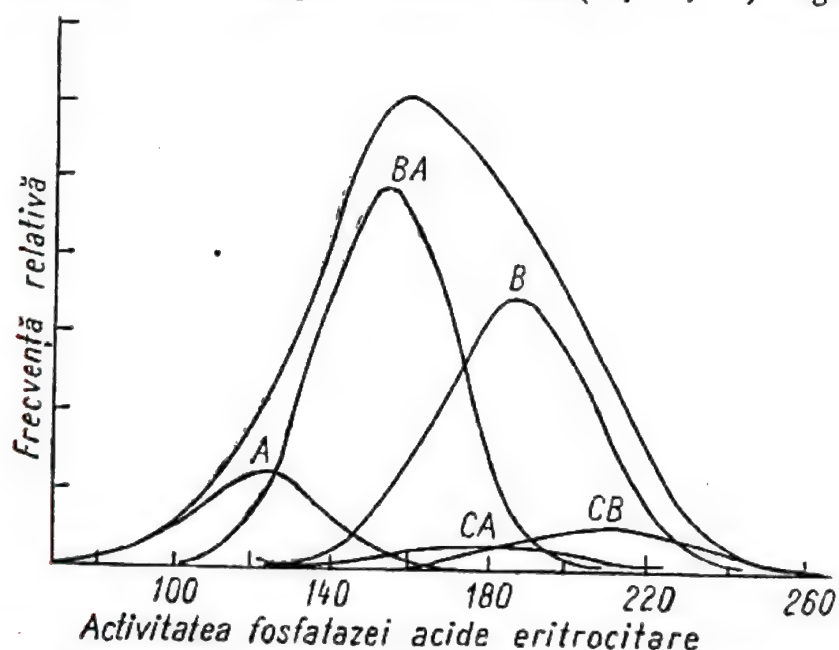


Fig. III, 3. Distribuția valorilor activității fosfatazei acide eritrocitare global (curba superioară) și în diferite fenotipuri [după H. Harris și colab. (20)].

raport de 2:3:4. În fiecare din cele 6 fenotipuri rezultate din cîte 2 alele prezente, enzimele își aduc contribuția la activitatea totală, ceea ce duce la valori diferite de activitate enzimatică pentru fiecare fenotip.

Studiind într-o populație dată, activitatea fosfatazei acide eritrocitare și reprezentând grafic valorile găsite față de frecvența cu care se găsește valoarea respectivă, H. Harris (20) a obținut o curbă de distribuție continuă unimodală de o formă al cărei aspect nu diferă de oricare altă curbă de frecvență. Studiind însă la aceiași indivizi distribuția valorilor de activitate după apartenența la un fenotip sau la altul se obțin o serie de curbe de distribuție (fig. III, 3) separate, care se suprapun parțial, fiecare cuprinzând o parte din domeniul curbei generale. Sumarea acestor curbe pentru diferitele fenotipuri dă curba generală a valorilor normale în întreaga populație. Această demonstrație deosebit de pregnantă s-ar putea foarte probabil să explice cazuri similare de extindere a valorilor normale pe un domeniu larg. Totodată este evidentă importanța determinării fenotipului pentru dozarea unei activități enzimatice.

Plecînd de la existența unui polimorfism cu o frecvență suficient de mare a variantelor pentru a avea semnificații într-o populație, H. Harris a urmărit 10 enzime alese la întîmplare. Dintre acestea, 7 prezintă variante cu o frecvență suficient de mare (tabelul III, 2). Din datele lucrării lui H. Harris

TABELUL III, 2

Polimorfismul enzimatic în populația din Anglia (după H. Harris)

Enzima	Număr de alele cu o frecvență mai mare de 0,01	Frecvența celui mai comun fenotip	Probabilitatea ca 2 indivizi luați la întîmplare să aparțină aceluiasi fenotip
Fosfataza acidă din hematii	3	0,43	0,34
Fosfoglucomutaza	2	0,58	0,47
Fosfataza alcalină din placentă	3	0,41	0,31
Acetiltransferază	2	0,50	0,50
Adenilatkinaza	2	0,90	0,82
Colinesteraza serică			
Locusul E ₁	2	0,96	0,92
Locusul E ₂	2	0,90	0,82
6-fosfogluconatdehidrogenaza	2	0,96	0,92
Combinat		0,037	0,011

reiese că probabilitatea ca doi indivizi aleși la întîmplare dintr-o populație să aibă același fenotip pentru toate enzimele respective este mai mică de 1 la 70. Extrapolînd aceste date și luînd în considerație totalitatea tipurilor de proteine existente într-un organism uman (apreciat la circa 10^5) sau chiar numai pentru enzimele cunoscute (în număr de aproximativ 1 000) ne putem da seama că gradul diferențelor între indivizi prin variații minore în modelul enzimatic trebuie să fie enorm. Probabilitatea ca doi indivizi să fie exact de același fenotip este atît de mică, încît nu este suficient nici măcar numărul total al indivizilor de la începuturile speciei umane pînă acum.

III. RELAȚIA VARIANTE GENETICE — BOLI MOLECULARE

În principiu, situația este similară pentru orice variantă, indiferent dacă activitatea enzimei care rezultă este sau nu alterată. Astfel, dacă la variantele de fosfatază, discutate mai înainte, raportul activităților pentru cele 3 variante ar fi nu de 2:3:4, ci de 1:10 și frecvența alelei cu activitatea mai scăzută ar fi de ordinul celei pentru P^c , în loc de variante, așa cum se denumesc astăzi, am avea de-a face la homozigoți cu „afosfatazemie” și la heterozigoți cu „hipofosfatazemie” (1).

Astăzi apare din ce în ce mai evidentă afirmația lui A. E. Garrod: „Am putea spune că erorile înnăscute ale metabolismului nu sînt altceva decît exemple extreme ale variațiilor comportamentului chimic întîlnite pretutindeni” (cit. 1).

Cu alte cuvinte, pentru ca o variantă genetică să aibă semnificația unei boli moleculare este necesar să fie depășită o anumită limită a consecințelor funcționale. Din acest punct de vedere am putea schematiza o clasificare a variantelor astfel:

- a) variante cu păstrare aparent integrală a activității;
- b) variante cu o ușoară modificare a activității, fără consecințe metabolice datorită posibilității de compensare sau cu consecințe doar în cazul unei supra-solicitări a activităților respective;
- c) variante cu consecințe metabolice chiar în condiții obișnuite (43). Pe de altă parte este de așteptat ca o alelă cu consecințe funcționale grave să aibă o frecvență mult mai mică decît celelalte, tocmai datorită șanselor mai mici de supraviețuire a indivizilor care o poartă.

Pentru a exemplifica cele de mai sus vom prezenta cîteva proteine (enzime), pentru care se cunosc diferite variante, dintre care unele se încadrează printre bolile moleculare.

Astfel, începînd din 1961 (cit. 61), au fost descrise aproape 40 de variante pentru glucozo-6-fosfatdehidrogenaza eritrocitară. Nu se poate încă preciza cu certitudine dacă toate acestea sînt sau nu entități distincte, tocmai fiindcă nu se cunoaște secvența de aminoacizi pentru lanțurile polipeptidice ale enzimei. Această enzimă are o importanță deosebită în hematii, prin faptul că furnizează $NADPH_2$ necesar sistemelor enzimatice care reduc methemoglobina formată în mod fiziologic sau patologic, precum și grupele —SH libere din alte proteine celulare (unele cu rol structural). De obicei, enzima din hematii migrează electroforetic la fel (tip B), indiferent de populația studiată (negri sau albi) și prezintă aceleași proprietăți fizico-chimice și enzimatice. S-a izolat însă de la negri o enzimă diferită, cu migrare electroforetică mai rapidă (tip A), fără a se deosebi prin alte proprietăți de cea obișnuită (tabelul III, 3). Au fost descrise pe lîngă acestea și alte variante cu migrare electroforetică diferită de A sau B la negri și albi concomitent, cu proprietăți fizicochimice modificate, care nu se asociază cu o scădere semnificativă a activității enzimei și nici nu duc la condiții patologice (pînă la nr. 15, inclusiv din tabelul III, 3). Alte variante, deși diferă de cele obișnuite și printr-o acti-

vităte enzimatică redusă (nr. 16—21 din tabelul III, 3) nu se acompaniază totuși de semne clinice. Variantele A⁻ la negri și B⁻ la albi (nr. 22 și 23), deși păstrează o migrare electroforetică apropiată de modelul obișnuit au activități specifice mult reduse. Acestea duc în cazul variantei A⁻ la anemii hemolitice prin administrare de medicamente (Primaquin) sau în timpul unor infecții, iar în cazul variantei B⁻ la manifestări similare, inclusiv icter hemolitic neonatal în cazul ingerării de fasole fava (favism), de medicamente (Cloramfenicol) sau în procese infecțioase. În sfârșit, o serie de alte variante (nr. 24—37) se manifestă clinic prin anemii hemolitice congenitale nefero citare în lipsa oricărui factor declanșator.

O mențiune specială merită o variantă de glucozo-6-fosfatdehidrogenază, descoperită de curînd (17), „G6PD Hektoen“, care se deosebește relativ puțin de tipul obișnuit B, dar are o activitate specifică ceva mai mare și, ceea ce este important, se sintetizează în cantități crescute la individul purtător. Ar putea să fie vorba de unul din cazurile de mutație pe o genă de reglare.

Exemplul variantelor pentru glucozo-6-fosfatdehidrogenaza din hematii este, după cum se poate observa, deosebit de demonstrativ pentru clasificarea dată și ilustrează relația de similaritate între „variantele naturale ale unei enzime și cele care le încadrăm între bolile moleculare“.

O enzimă cu un rol asemănător este 6-fosfogluconatdehidrogenaza eritrocitară. Ea produce NADPH₂ prin oxidarea 6-fosfogluconatului la 6-fosfo-3-cetogluconat. Se cunosc pînă acum 5 alele principale pentru gena care controlează enzima, respectiv PGA^α, PGA^β, PGA^γ, PGA^δ, și PGA^θ, dintre care ultima duce la o lipsă cvasitotală de activitate în stare de hemozigot (14, 37). De curînd a fost descrisă o a 6-a alelă, cu o răspîndire restrînsă într-o anumită regiune din Australia: PGA^{Elcho} (8). Din totalul de 15 fenotipuri posibile pentru cele 5 alele mai frecvente s-au întîlnit pînă acum 8, a căror frecvență este dată în tabelul III, 4 (cit. 37), pentru populația din Anglia. Enzima obișnuită este dată de alela PGA^α; dintre celelalte mai adesea se găsește PGA^β, evident în special la heterozigoți PGA^α/PGA^β. Frecvența PGA^β este diferită după populație, variînd de la zero la un grup mic de indieni din America Centrală la 0,153 pentru negrii din Africa și 0,021—0,039 pentru caucazienii din Europa și America (cit. 8). Varianta „Elcho“ a fost găsită limitată la un grup etnic din Australia sub formă de heterozigoți PGA^α/PGA^{Elcho} cu o frecvență a genei de 0,017 (8).

Altă enzimă care prezintă variante potențial patologice este pseudocolinesteraza serică. Variantele au fost descoperite ca urmare a unor accidente după administrare de succinilcolină, un relaxant muscular care în mod normal este hidrolizat de această enzimă. Pe lîngă alela normală (E₁^u) au mai fost descrise: alela E₁^a responsabilă pentru sinteza unei variante deficitare în hidroliza succinilcolinei rezistentă la inhibiția prin dibucaină (spre deosebire de cea normală (25) și într-o oarecare măsură sensibilă la fluorură (cea normală este mai sensibilă): E₁^f care condiționează prezența unei variante mai puțin deficitare în hidroliza succinilcolinei, cu sensibilitate intermediară între cele două de mai sus pentru dibucaină și fluorură (21); în sfârșit, alelele E₁^s a căror prezență duce la o lipsă de activitate enzimatică (cit. 31, 86). În ta-

Nr. crt.	Tip de G-6 PD (indicele bibliografic)	Populație	Activitate (%)	Mobilitate electroforetică
1	A (cit. 6)	Negri	100	Rapidă (A)
2	B (cit. 6)	Albi	100	Lentă (B)
3	Baltimore-Austin (cit. 3)	Negri	75	< B
4	Ibadan-Austin (cit. 3)	Negri	72	< Bal.-Aus.
5	Sardinia I (cit. 12)	Albi		< Ib.-Aus
6	Sardinia II (cit. 12)	Albi		< Srad i
7	Minas-Gerais (3)	Brazilieni	70	Tip B
8	Madrona (23)	Negri	70-80	< B
9	Madison (cit. 12)	Norvegieni	100	Ceva < decit B
10	Andhra-Pradesh (c.3)		100	> B
11	King Country (cit. 3)	Negri	100	Ceva > B
12	Lagos (cit. 3)	Negri	100	Ceva > B
13	Sao Paolo (cit. 3)	Brazilieni	100	Ceva > B
14	Ijebu-Ode (32)	Negri (Nigeria)	100	Tip A
15	Ita-Bale (32)	Negri (Nigeria)		Tip A
16	Seattle (6) (cit. 6)	Albi (anglo-saxoni)	8-21	Mult mai < B
17	D (cit. 12)	Albi (anglo-saxoni)	15-25	Mult mai < B
18	Barbieri (cit. 6)	Italiani	50	> B
19	Canton (cit. 12)	Chinezi	4-24	Între A și B
20	Capetown (cit. 12)	Negri	50	B
21	Paris III (12)	Albi (greci)	2,5	B
22	A-(cit. 6)	Negri	15-25	A sau >
23	B-(cit. 6)	Mediterranean (evrei, greci italieni)	2-15	B
24	Oklahoma (cit. 6)	Albi	4-10	B
25	Chicago I (cit. 70)	Albi	9-26	B
26	Ohio (cit. 7)	Albi (italieni)	2-16	> B
27	Bangkok (45)	Tailandezi	5	B
28	Albuquerque (7)	Albi (anglo-saxoni)	1	B
29	Duarte (7)	Albi	8,5	B
30	Mediterranean (7)	Evrei	0-1	B
31	Paris I (12)	Albi (francezi)	0-10	?
32	Paris II (12)	Albi (francezi)	0	B
33	Eyssen (cit. 12)	Albi	0	> B
34	Tübingen (cit. 12)	Albi (Olanda)	0,3	B
35	Berlin (12)	Albi (germani)	0-1	
36	Hong Kong (cit. 7)	Chinezi	0-15	≥ B
37	Milwaukee (53)	Albi (porto-ricani)	0-1	> B



K_m G-G-P	K_m NADP	Afinitate pentru 2-d-C-6-P	Stabilitate termică	Curba de activitate în funcție de pH	Manifestări clinice	Observații
N	N	N	N	N	—	—
N	N	N	N	N	—	—
↗++	N	N	N	N	—	—
↗++	N	N	N	N	—	—
?	?	?	?	?	—	—
?	?	?	?	?	—	—
N(↘)	N	↗	N	N	—	—
N(↘)	N	N	N	N	—	—
↘	?	?	?	?	—	—
?	?	?	?	?	—	—
N(↘)	N	↗	N	N	—	—
?	?	?	?	?	—	—
N	↗	?	?	?	—	—
↗	N	↗	↗++	?	—	—
↘	↘	↗	↘	Bimodală	—	—
↗	↗	↗	N	—	—	—
↘	↘	↗	↘	Bimodală	—	—
↘	↘	↗	N	Bimodală	—	—
N	N(↘)	↗++	N(↘)	N	Sensibilitate la Primaquin, infecții	—
↘	↘	↘	N(↘)	Bimodală	Anemii induse de medicamente, infecții, favism icter neonatal	Pr
↗++	↗	N	↘	Virfascuțit	Anemie hemolitică congenitală nesferocit (AHCN)	—
N	N	N	↘++	N	AHCN	—
↗	↗	N	↘++	?	AHCN	—
N	N	↗	↘++	Deplasată	AHCN	—
↗++	↗++	0	↘++	N	AHCN	—
N	N	N(↗)	↘++	Deplasată	AHCN	—
↘	↘	↗+	↘	Deplasat	AHCN	—
↗	↘	↘	↘++	Anormal	AHCN	—
↗	?	↘	↘	Anormal	AHCN	—
?	?	?	Labilă la rece	?	AHCN	—
↘	↘	?	?	?	AHCN	—
↗?	?	0	?	?	AHCN	—
↘	?	↗	N	N	AHCN	—
↗+++	?	N	N	N	AHCN	—

TABELUL III, 4

Variantele de 6-fosfogluconatdehidrogenază eritrocitară (37)

Denumirea fenotipului	Activitate față de normal (%)	Genotip		Frecvența %
Normal	100	PGA ^α	PGA ^α	95
1/2 Activitate	50-60	PGA ^α	PGA ^o	1(?)
Common variant	80-100	PGA ^β	PGA ^β	4
Cannig	70-90	PGA ^β	PGA ^α	0,05
1/2 Cannig	40-50	PGA ^β	PGA ^o	0,02
Richmond	100	PGA ^α	PGA ^δ	0,05
Hackney	100	PGA ^α	PGA ^δ	0,02
Full	0-10	PGA ^o	PGA ^{o?}	0,02

belul III, 5 sînt date fenotipurile cunoscute (cu mențiunea că alelele E₁^s nu pot fi încă deosebite una de alta), pentru variantele de mai sus. Tot pentru pseudocolinesterază a mai fost descris un locus (E₂) responsabil pentru prezența la anumite persoane a 5 benzi de migrare electroforetică pentru această enzimă, caracter care se moștenește ereditar (22). Aceste persoane prezintă evident o activitate colinesterazică serică mai mare decît media. A fost descrisă și în cazul acestei enzime o variantă ereditară, cu o activitate specifică de 3-4 ori mai mare decît enzima obișnuită, dar deocamdată nu s-a putut preciza dacă alela mutantă este pe E₁ sau pe E₂ (35). Varianta cu activitate mai mare se deosebește și prin afinitatea pentru inhibitori organofosforici (35). Activitatea specifică mai mare condiționată de prezența unei variante genetice a fost descrisă și pentru alcooldehidrogenaza hepatică. Din nou variantele se deosebeau de enzima obișnuită prin comportamentul față de anumiți inhibitori (51).

TABELUL III, 5

Principalele fenotipuri de pseudocolinesterază cunoscute

Fenotip	Genotip	Sensibilitate la succinilcolină
Homoziгоți		
U (normal)	E ₁ ^u E ₁ ^u	Insensibil
A	E ₁ ^a E ₁ ^a	Foarte sensibil
F	E ₁ ^f E ₁ ^f	Moderat sensibil
S	E ₁ ^s E ₁ ^s	Foarte sensibil (lipsă activitate)
Heterozigoți		
UA	E ₁ ^u E ₁ ^a	Insensibil
UF	E ₁ ^u E ₁ ^f	Insensibil
US	E ₁ ^u E ₁ ^s	Insensibil
AF	E ₁ ^a E ₁ ^f	Moderat sensibil
A	E ₁ ^a E ₁ ^s	Foarte sensibil
F	E ₁ ^f E ₁ ^s	Moderat sensibil

În sfârșit, pentru o altă enzimă — catalaza din eritrocite — a putut să fie evidențiat faptul că în unele cazuri de așa-numită acatalazemie, ea nu lipsește de fapt, ci este prezentă o variantă cu o stabilitate mai redusă. Pentru această enzimă a fost descrisă și o variantă care se deosebește prin migrarea electroforetică, dar cu aceeași activitate ca și cea normală (1). De altfel, la șoareci se cunoaște bine polimorfismul acestei enzime (18).

Se mai cunoaște o proteină serică ale cărei variante se pare că realizează manifestări clinice, deși deocamdată nu se poate preciza în ce mod anume. Este vorba de inhibitorul tripsinei care migrează electroforetic la pH 8—9 împreună cu α_1 -globulinele serice. În 1963, S. Eriksson a descris lipsa înăscută a acestei fracțiuni la un număr mare de indivizi afectați de o formă gravă de enfizem pulmonar. Această asociere a fost de atunci confirmată prin mai multe lucrări (cit. 28). Trei ani mai târziu a fost descrisă o variantă genetică a α_1 inhibitorului antitripsinic, caracterizată printr-o migrare electroforetică mai înceată (cit. 39).

După cum se poate remarca, toate proteinele discutate, la care s-au evidențiat pînă acum variante genetice, se găsesc fie în plasmă, fie în hematii. Aceasta, se înțelege, datorită accesibilității relativ ușoare. Nu aceeași este însă situația pentru enzime, care se găsesc numai în alte țesuturi, așa cum am amintit în capitolul precedent.

Pentru a încheia acest capitol este poate bine să subliniem faptul că vînătoarea după noi variante genetice pentru proteinele (enzimele) cunoscute este doar la început și că ne putem aștepta în anii care vin la multe descoperiri de acest gen.

IV. VARIABILITATEA PROTEINELOR CA MIJLOC DE CARACTERIZARE GENETICĂ

Deși nu intră în scopul nostru să dezvoltăm acest aspect al problemei, este totuși bine să amintim că multe din variantele genetice descoperite pentru diverse proteine au intrat în uzul curent al încadrării genetice a indivizilor. În principiu, orice variantă de proteină poate fi folosită ca un criteriu genetic, dar pentru studii în populație este desigur necesar ca ea să prezinte o frecvență suficient de mare. Criteriile de încadrare genetică aduse prin descoperirea variantelor pentru anumite proteine au o valoare deosebită pentru medicina legală, etnografie, antropologie.

Chiar caracterele genetice, clasice, cum sînt prezența substanțelor pentru diferitele grupe sanguine încep să fie fundamentate enzimologic. Astfel s-au găsit fucoziltransferaze cu specificitate de substrat caracteristică pentru mucopolizaharidele hematiilor specifice pentru grupul A (26), B (38), Lewis (Le^a și Le^b) (19) și pentru caracterul antigenic tisular H (cit. 19).

În ultimii ani au mai fost descrise o serie de variante genetice pentru multe din proteinele serice, pentru unele fiind posibil de indicat și numărul de alele implicate: 10 tipuri diferite de albumine (cîteva cu posibile implicații patologice) (2) (cit. 5, 10, 30), 4 alele diferite pentru proteinele Gc din

grupul α_2 -globulinelor, 2 alele pentru lipoproteinele de densitate joasă, 17 tipuri de transferitine (cit. 5), 4 alele pentru componenta C_3 a complementului (β_{1c} -globuline) (4), 3 alele pentru locusul Inv al lanțurilor ușoare k, 2 pentru variantele Mz și 2 pentru Oz ale lanțurilor ușoare, 6 pentru variantele Gm ale lanțurilor grele din γ -globuline (4). Am vrea să precizăm doar variantele unei singure proteine din cele folosite în încadrarea genetică și anume cele ale haptoglobinei.

Haptoglobina a fost descrisă de Polonovsky și Jayle ca o fracțiune din globuline care se combină cu hemoglobina (cit. 5). O dată cu introducerea tehnicii de electroforeză în gel de amidon, O. Smithies (42) a arătat că migrarea electroforetică nu este totdeauna aceeași la indivizi diferiți. Astfel, la un grup de indivizi se observă o singură bandă de migrare deplasată înspre anod. Haptoglobina de acest tip a fost notată cu Hp 1—1. La alți indivizi se putea observa un grup de benzi dintre care nici una nu corespundea poziției pentru Hp 1—1. În sfârșit, un al treilea grup de indivizi prezintă mai multe benzi de migrare electroforetică, din care una în dreptul poziției pentru Hp 1—1. Grupul a fost notat cu Hp 2—1. Explicația constă din faptul că haptoglobinele sînt compuse din două tipuri de subunități: unele mai mici notate cu α (G. M. 9 000) și altele mai mari β (G. M. 65 000) (fig. III, 4). Fiecare subunitate β leagă două α . Variantele amintite mai sus se datorează unor alele pentru gena subunității α . În fenotipul Hp 1—1, banda unică este dată de

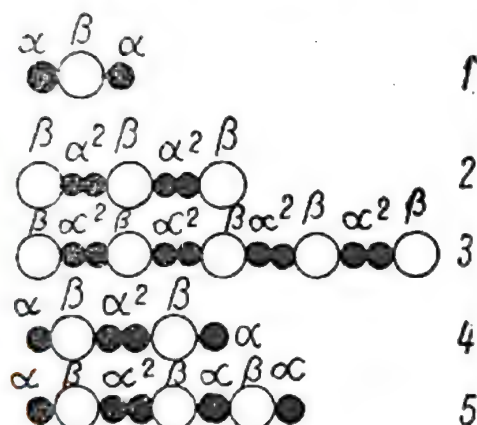


Fig. III, 4. Schema modului de formare a moleculelor de haptoglobine.

Rîndul 1 — molecule găsite în fenotipul pH 1—1; rîndul 2 și 3 — 2 din tipurile de polimeri posibili în fenotipurile Hp. 2—2, unde există subunități α^2 ; rîndurile 3 și 4; 2 din formele de polimeri posibili în fenotipurile Hp. 2—1, unde există subunități α alături de α^2 .

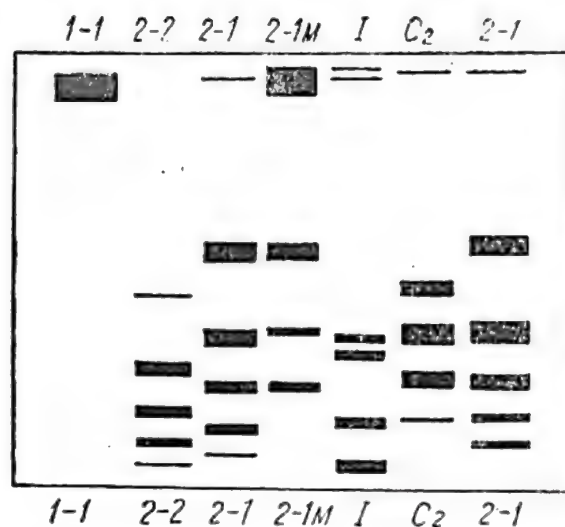


Fig. III, 5. Benzile de migrare electroforetică a haptoglobinelor în diverse fenotipuri posibile [după A. G. Bearn și H. Cleve (5)].

molecule formate din 2 subunități α și β . În fenotipul Hp 2—2 avem de-a face cu indivizi homozigoți pentru alela Hp^2 . Această alelă rezultă din sudarea parțială a 2 gene Hp^1 obișnuite, astfel că proteina rezultată α_2 va avea dimensiuni aproximative duble față de obișnuit. Benzile multiple sînt date de formarea unei serii de polimeri de tip $(\beta\alpha^2)_M$ unde $M=3, 5, 7$. În cazul pre-

zenței la heterozigoți a unei gene Hp^2 și a uneia Hp^1 , polimerii formați vor fi de forma $(\alpha_2\beta)_M$, unde $M=2, 4, 6$ (dacă considerăm $\alpha_2=2$), ceea ce explică migrarea benzilor în fenotipul $Hp\ 2-1$ (fig. III, 5).

Pentru gena de tip Hp^1 se cunosc două variante: Hp^{1F} și Hp^{1S} , în care proteinele rezultate au migrare mai rapidă (*fast*) sau mai înceată (*slow*).

După felul genelor de tip Hp^1 , care s-au sudat parțial pentru a da o genă Hp^2 vom avea Hp^{2F-F} , Hp^{2S-S} și Hp^{2F-S} . Au mai fost găsite și alte fenotipuri: $2-1\ M$ în care benzile se aseamănă cu cele din $2-1$ obișnuit, dar sînt calitativ diferite, ceea ce sugerează o sinteză în cantități mici a proteinelor α_2 (blocarea genei Hp^2) și Hp^0 în care nu apare haptoglobină. Fenotipurile J (de la Johnson) și Ca figurate sînt ceva mai greu de interpretat deocamdată (fig. III, 5).

V. REGLAREA BIOSINTEZEI PROTEINELOR ȘI INDIVIDUALITATEA BIOCHIMICĂ

Așa după cum am mai amintit, o lipsă de activitate pentru una dintre enzimele cunoscute poate să fie explicată fie prin biosinteza unei proteine în așa chip alterată structural, încît nu mai este funcțională, fie printr-o mutație pe o genă de reglare care duce la o lipsă sau la o sinteză în cantități insuficiente. Exemple pot fi găsite între variantele amintite mai înainte.

La organismele superioare, procesele de reglare a biosintezei diverselor proteine îmbracă însă aspecte particulare. Prin procesele de diferențiere a anumitor țesuturi, genele sînt blocate uneori definitiv, în timp ce altele intră în activitate. Un exemplu tipic ar fi înlocuirea hemoglobinei de tip embrionar cu cea de tip fetal $F\alpha_2^A\gamma_2$ și a acesteia cu cea de tip adult $Hb\ A\alpha_2^A\beta_2^A$, prin intrarea secvențială în acțiune a genelor pentru lanțurile de tip γ și apoi pentru β concomitent cu blocarea predecesoarelor (ϵ și γ). Se cunosc foarte multe enzime a căror sinteză este încă deficitară sau chiar absentă la copilul nou-născut. De exemplu, sistemul enzimatic de conjugare a bilirubinei în ficat este deficitar la naștere, dar în scurt timp (cîteva săptămîni) atinge nivelul adultului. În cazul copiilor născuți prematur, deficiența acestui sistem enzimatic este mult mai marcată, ceea ce duce la un icter neonatal cu hiperbilirubinemie de tip indirect (bilirubină neconjugată), prelungit, iar în cazul asocierii unei eritroblastoze cu hemoliza consecutivă (incompetență de Rh), consecințele vor fi deosebit de severe.

Legat de aspectele diferențierii este prezența în ser a unei fosfataze alcaline produse de placenta. În ultimul timp această enzimă se bucură de o atenție deosebită. S-a reușit să se obțină anticorpi anti-enzimă specifici, cu ajutorul cărora se precipită selectiv fosfataza alcalină placentară din serul gravidelor, astfel încît poate fi calculată proporția din activitatea totală adusă de această izoenzimă. În acest mod s-a putut constata că ea apare în ser încă din primul trimestru de sarcină, concentrația crește apoi treptat ajungînd la 70% din activitatea totală a serului în următoarele două semestre. În cazul în care fătul moare intrauterin, se constată destul de curînd o descreștere a nivelului izoenzimei (44).

Un aspect deosebit de interesant al blocării anumitor gene îl constituie fenomenul de inactivare a unuia din cromozomii X în celulele feminine (care au doi cromozomi X). Acest lucru a fost presupus prima dată de Lyon (cit. 42). Cromozomul inactivat poate fi oricare din cei doi prezenți la început, astfel că în unele celule va rămâne funcțional unul, iar în altele celălalt. Acest lucru a putut fi dovedit între altele și cu ajutorul variantelor enzimatice a căror genă se găsește pe cromozomul X.

La femeile heterozigote pentru deficiență în glucozo-6-fosfatdehidrogenază există două populații de celule, unele cu enzimă deficitară, altele cu enzimă normală după cromozomul X inactivat (cit. 6). Două populații de celule au fost găsite similar pentru femeile heterozigote, pentru un anumit tip de agammaglobulinemie (cit. 5) și pentru o variantă a hipoxantinguaninfosforibozitransferazei (42).

În afara acestor mecanisme specifice organismelor superioare se cunosc la om o serie de enzime care pot fi induse similar cu inducția enzimelor la bacterii. Încă de mult se știe, de exemplu, că biosinteza enzimelor digestive este condiționată de prezența substratelor respective în alimentație (atenție în cazul schimbării dietei). Fenomenul de inducție a putut fi dovedit de asemenea pentru unele enzime care metabolizează medicamentele.

Un caz deosebit de interesant de inducție a fost descris de către Welch și colab. (32). Este vorba despre inducția unei enzime care hidroxilează 3,4-benzpirenul ca răspuns la fumat. Dozarea activității enzimei a fost făcută comparativ în placenta femeilor fumătoare și a celor nefumătoare. S-a observat că această activitate lipsește în placentele nefumătoarelor, în timp ce la fumătoare era prezentă, deși într-un grad diferit de la caz la caz. Deoarece 3,4-benzpirenul este o hidrocarbură, a cărei capacitate cancerigenă este cunoscută, iar derivatul său hidroxilat este cu mult mai puțin periculos, inducția acestei enzime poate fi privită ca un mecanism de apărare. Gradul diferit de inducere a enzimei de la individ la individ ar putea să explice susceptibilitatea mai mare sau mai mică la cancerigen.

BIBLIOGRAFIE

1. Aebi H. E. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 271.
2. Arends T., Gallango M. L., Layrisse M., Wilbert J., Heinen H. D. — *Blood*, 1969, 33, 414.
3. Azevedo E. S., Yoshida A. — *Nature*, 1969, 222, 380.
4. Azen E. A., Smithies O. — *Science*, 1968, 162, 905.
5. Bearn A. G., Cleve H. — *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1321.
6. Beutler E., Baluda M. C. — *Lancet*, 1964, 1, 189.
7. Beutler E., Nathai C. K., Smith J. E. — *Blood*, 1968, 31, 131.
8. Blake N. M., Kirk R. L. — *Nature*, 1969, 221, 278.
9. Blake N. M., Kirk R. L., Pryke E., Sinnett P. — *Nature*, 1969, 221, 96.
10. Blumberg B. S., Martin J. R., Melartin I. — *J. Amer. Med. Ass.*, 1968, 203, 114.
11. Bockendal H., Ammon R. — *Methods of Enzymatic Analysis*, edit. H. U. Bergmeyer, Verlag, Chemie, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 771.

12. Boivin P., Galand C. — *Rev. franc. Étud. clin. biol.*, 1968, 13, 30.
13. Boulton F. E., Huntsman R. G., Lorkin P. A., Lehmann H. — *Nature*, 1969, 223, 832.
14. Bowman J. E., Carson P. E., Frischer H. — *Nature*, 1966, 210, 811.
15. Boyer S. H., Fainer D. C., Naughton M. A. — *Science*, 1963, 140, 1228.
16. Boyer S. H., Fainer D. C., Watson-Williams E. J. — *Science*, 1963, 141, 642.
17. Dern R. J., McCurdy P. R., Yoshida A. — *J. Lab. clin. Med.*, 1968, 283.
18. Feinstein R. N., Suter H., Jaroslow B. N. — *Science*, 1968, 159, 638.
19. Grollman E. F., Kobata A., Ginsburg V. — *J. clin. Invest.*, 1969, 48, 1489.
20. Harris H., Hopkinson D. A., Luffman J. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 151, 232.
21. Harris H., Whittaker M. — *Nature*, 1961, 191, 496.
22. Harris H., Whittaker M. — *Ann. Human. Genet.*, 1963, 27, 53.
23. Hook E. B., Stamatoyannopoulos G., Yoshida A., Motulsky A. G. — *J. Lab. clin. Med.*, 1968, 72, 404.
24. Javid J., Yingling W. — *J. clin. invest.*, 1968, 47, 2297.
25. Kalow W., Genest K. — *Canad. J. Biochem.*, 1957, 35, 339.
26. Kobata A., Grollman E. F., Ginsburg V. — *Arch. Biochem.*, 1968, 124, 609.
27. Kraus A. P., Neely C. L. — *Science*, 1964, 145, 595.
28. Kueppers F., Briscoe W. A., Bearn A. G. — *Science*, 1964, 146, 1678.
29. Lai L. Y. C. — *Nature*, 1968, 217, 1186.
30. Lau T., Sunderman F., Agarwal S. S., Sutnick A. I., Blumberg B. S. — *Nature*, 1969, 221, 66.
31. Lehmann H., Liddell J. — *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1356.
32. Luzzatto L., Afolayan A. — *J. clin. Invest.*, 1967, 47, 1833.
33. Markert C. L. — *Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis*, edit. M. Locke, Academic Press, New York — Londra, 1963, p. 65.
34. Nance W. E., Clafin A., Smithies O. — *Science*, 1964, 145, 595.
35. Neitlich H. W. — *J. clin. Invest.*, 1966, 45, 380.
36. Neumann S., Walter H. — *Nature*, 1968, 219, 950.
37. Parr C. W. — *Nature*, 1966, 210, 489.
38. Race C., Ziderman D., Watkins W. M. — *Biochem. J.*, 1968, 107, 733.
39. Rosen F. S. P., Charache J., Pensky J., Donaldson V. — *Science*, 1967, 148, 957.
40. Rosenbloom F. M., Kelley W. N., Henderson J. F., Seeghiller J. E. — *Lancet*, 1967, 2, 305.
41. Shaw C. R. — *Science*, 1964, 149, 936.
42. Smithies O. — *Advanc. Protein Chem.*, 1959, 14, 65.
43. Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. S. — *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*, edit. autori citati, Ed. Mc. Graw-Hill, New York — Londra, 1966, p. 3.
44. Susman H. H., Bowman M., Lewis J. L. — *Nature*, 1968, 218.
45. Talalak P., Beutler E. — *Blood*, 1969, 33, 772.
46. Tashian R. E., Plato C. C., Shows T. B. Jr. — *Science*, 1963, 140, 53.
47. Tashian R. E., Riggs S. K., Ya-Shiou L. Yu. — *Arch. Biochem.*, 1966, 117, 320.
48. Vesell E. S., Page J. G. — *Science*, 1968, 161, 72.
49. Vesell E. S., Page J. G. — *Science*, 1968, 159, 1479.
50. Vesell E. S., Page J. G. — *J. Lab. clin. Invest.*, 1968, 47, 2657.
51. Wartburg J. P. Von, Papenberg J., Aebi H. — *Canad. J. Biochem., Physiol.*, 1965, 43, 889.
52. Welch C. E. — *Science*, 1968, 160, 541.
53. Westring D. W., Pisciotto A. V. — *Arch. intern. Med.*, 1968, 118, 385.

MUTAȚII, VARIANTE GENETICE ALE PRO- TEINELOR ȘI PROCE- SELE FILOGENETICE LA NIVEL MOLECULAR

I. Manta și Gh. Jebeleanu

I. INTRODUCERE

Ideea abordării filogeniei folosind cunoștințele acumulate de genetică nu este cîtuși de puțin nouă. Despre asemenea încercări se poate vorbi încă de la începuturile celor două științe.

Se poate afirma însă că abia după fundamentarea principiilor biologiei moleculare, o asemenea interpretare a devenit riguros posibilă. Acest lucru era întrevăzut probabil atunci cînd Daewin vorbea despre o „selecție naturală între molecule“, pentru ca Huxley, continuatorul său să precizeze că „organismul ca întreg este produsul moleculelor care au învins, în aceeași măsură în care flora sau fauna unei țări este produsul organismelor învingătoare“.

Recunoașterea rolului proteinelor ca instrumente ale activităților fundamentale din lumea vie și a semnificației lor de caractere ereditare elementare a condus la concluzia că modificări ale structurii acestora sînt cauza schimbărilor morfologice și funcționale suferite de organisme în filogenie. Variantele genetice dovedite astăzi pentru foarte multe proteine, la o mare diversitate de specii, indică calea interpretării moleculare a mecanismelor evolutive. Evident, modificările ereditare ale structurii proteinelor sînt consecința modificărilor — mutațiilor — suferite de materialul genetic, acizi nucleici, care le determină. În ultimă instanță, proprietățile oricărui organism depind de structura moleculelor acizilor nucleici și a proteinelor pe care le conțin; tocmai de aceea aceste tipuri de molecule sînt cuprinse sub termenul general de „molecule informaționale“ sau „semantice“.

Pentru ca o modificare oarecare să fie menținută în timpul evoluției, ea trebuie să prezinte la un moment dat un avantaj fiziologic sau cel puțin să nu fie dezavantajoasă comparativ cu structura obișnuită. Din discutarea diverselor variante ale enzimelor și ale altor proteine la om, cititorul a putut constata că o foarte mare parte sînt puțin diferite de corespondentele lor normale, unele duc la dezavantaje fiziologice manifestate ca „erori înnăscute

de metabolism“ sau „boli moleculare“, numai în anumite condiții de mediu, sau pentru altele indiferent de condiții și, în sfârșit, pentru un număr mic de variante se poate vorbi aparent de un „avantaj fiziologic“ al indivizilor care le posedă. Dată fiind complexitatea organismelor superioare și a interrelațiilor lor cu mediul, este însă foarte greu de precizat, așa cum se va vedea din cuprins, ce anume putem considera un „avantaj funcțional“.

Modificarea minimă pe care o poate suferi o proteină este, așa după cum s-a arătat de mai multe ori în cuprinsul capitolelor de biologie moleculară, înlocuirea unui aminoacid din secvență cu altul, consecință a ceea ce se numește „mutație punctiformă“. Pe lângă acest tip au fost prezentate proteine din a căror secvență s-au pierdut câțiva aminoacizi, tip de modificare cunoscută sub numele de deleție sau inversul acesteia, introducerea de aminoacizi în plus față de secvența obișnuită — inserție. Compararea proteinelor cu aceeași activitate enzimatică (sau alt tip de activitate) de la specii diferite a relevat modificări asemănătoare în secvențele de aminoacizi cu cele între variantele genetice ale aceleiași proteine în cadrul speciei, desigur într-o proporție mai mare.

Asemănarea de structură a proteinelor active la diverse specii, asemănare ce atinge un grad remarcabil uneori, este o dovadă în plus a unității lumii vii și indică o origine comună filogenetică. Pe lângă acest tip de asemănări și deosebiri între alcătuirea proteinelor la viețuitoare se poate observa și altul, foarte probabil mult mai important pentru filogenie. În numeroase cazuri se observă cum unei singure proteine găsite la o specie inferioară îi corespund mai multe proteine la speciile evoluate, toate asemănătoare ca secvență în diferite grade. Este o indicație despre un proces mai complex de „multiplicare“ a unei structuri unice originare, proces care poate fi reprezentat cel mai simplu sub forma unei „duplicări“. Prin duplicarea matricei de ADN se dă posibilitatea evoluției mutaționale independente a duplicatului, adică a unei secvențe de aminoacizi într-o proteină, paralel cu menținerea matricei inițiale și deci a secvenței originare. Duplicările și mutațiile duc la existența în lumea vie a unei multitudini de proteine similare ca secvență de aminoacizi (omologe), cu grade diferite de asemănare funcțională (analogie) (45). Putem grupa astfel, după gradul de omologie a secvenței, specii, genuri, familii, ordine etc. de proteine. O asemenea clasificare nu se suprapune desigur peste clasificarea organismelor din biologie, deoarece are un scop diferit, cu toată asemănarea de principiu. Ea reprezintă un prim pas în urmărirea istoriei unei gene în evoluție, tot așa cum clasificarea taxonomică servește stabilirii înruderilor între organisme. Pentru a putea stabili cu certitudine schema evolutivă a speciilor biologice, ar trebui comparate toate secvențele proteinelor din organismele analizate (sau cel puțin un număr suficient de mare) cu cele ale organismului originar (respectiv a descendenților direcți ai acestuia), făcând totodată o integrare funcțională și morfologică, ceea ce evident depășește posibilitățile actuale. Cu toate acestea, istoria genelor individuale marchează evenimente importante în evoluție, caracteristică utilă studiilor de clasificare biologică (69).

Evident, cu cât o secvență de aminoacizi a evoluat independent, un timp mai îndelungat, de cea din care a provenit, cu atât deosebirile vor fi mai

mari. De aceea putem presupune că în cazul a două proteine omologe, cu cât deosebirile vor fi mai mari, cu atât ancestorul comun lor, va fi mai vechi.

Cum avantajul sau dezavantajul unei modificări de secvență se evidențiază prin modificările activității proteinei este de presupus că „presiunea selecției naturale” se aplică asupra structurilor tridimensionale ale proteinelor care, după cum se știe din biologia moleculară, determină funcția. În cazul sistemelor biologice este de presupus că există foarte multe căi de exercitare a acestei presiuni selectivă. Pe de o parte, cele mai simple, cum ar fi disponibilitatea substratelor sau prezența unor inhibitori în mediu extern cu care comunică, iar pe de altă parte, căi mai complicate, rezultate din interacțiunea între macromoleculele active. Interacțiunile pot să fie directe sau indirecte. Cazul cel mai simplu din interacțiunea directă este cel al asocierii mai multor lanțuri polipeptidice, fiecare cu o anumită configurație, pentru a da o moleculă proteică, altul, ceva mai complicat, a mai multor proteine într-un complex. Interacțiunile indirecte sînt reprezentate prin dependența în cadrul lanțurilor metabolice a funcției unei enzime de cele ale enzimelor din același ciclu și prin conexiunile datorite proprietăților alosterice cu metaboliți furnizați de alte enzime sau alte sisteme enzimatice. Deși este o enumerare sumară, se poate vedea că modificarea unei secvențe proteice este supusă unui „control evolutiv” sever și multiplu.

Pentru început ne vom ocupa de felul în care ia naștere diversitatea proteinelor, respectiv cu procesele mutaționale și de multiplicare a materialului genetic, pentru a putea trece apoi la ce anume este selectat din aceste consecințe și în final la o încercare de integrare a cunoștințelor.

II. MODIFICĂRILE MATERIALULUI GENETIC

Mutația punctiformă este modificarea minimă posibilă și constă din înlocuirea unei baze din secvența ADN cu alta (evident, prin reduplicarea dublei elici se ajunge la descendenți și la înlocuirea perechii acesteia din lanțul complementar). Este de remarcat că, datorită degenerării codului genetic (mai mulți codoni pentru același aminoacid), nu orice înlocuire de baze are drept consecință obligatorie modificarea secvenței de aminoacizi în polipeptida codificată. De fapt, ne putem imagina o înlocuire de baze, în special în poziția 3 a codonului, care nu face altceva decît să-l transforme în unul din ceilalți codoni pentru același aminoacid. Putem deosebi două situații în înlocuirile de baze (24):

1. Înlocuirea unei baze purinice cu altă bază purinică sau a unei pirimidine cu o altă pirimidină, așa-numita tranziție.

Se consideră în general că mecanismele pentru apariția tranzițiilor sînt cele mai probabile în mutațiile punctiforme. Acest gen de mutații a fost evidențiat prin acțiunea a o serie de agenți mutageni chimici (5-Br-dezoxiuridina, HNO_2 , 2-aminopurină, hidroxilamină, agenți alchilanți etc.) și este de presupus în cazul mutațiilor spontane, formele tautomere rare ale bazelor respective enol și imino, ducînd la împerecheri greșite A—C și G—T.

2. Înlocuirea unei pirimidine cu oricare din purine sau a unei purine cu oricare din pirimidine, mecanism numit transverzie.

MODIFICAREA SECVENȚEI AMINOACIZILOR ÎN LIZOZIMUL PRODUS DE BACTERIOFAGUL T4 PRIN DELEȚII ȘI INSERȚII

Poziția aminoacizilor în secvență: 1 2 3 4 5 6 34 35 36 37 38 39 40 41 42

Secvența în lizozimul produs de bacteriofagul T4 original (sălbatic):

Met-Asn-Ile-Fen-Glu- - - -Met Tre-Liz-Ser-Pro-Ser-Leu-Asn-Ala-Ala-

Secvența codonilor în mRNA regiunii respective pentru lizozimul produs de bacteriofagul sălbatic:

AUG AAU AUC UUU GAA - (A)GU-CCA-UCA-CUU-AAU-GG
↑ ↑
inserție (G) (AU) inserție deleție inserție

Secvența codonilor în mRNA regiunii respective pentru lizozimul produs de unul din mutanții dubli cu o inserție și o deleție învecinate:

AUG GAA UAU AUC UUU GAA - GUC-GAU-CAC-UUA-AUG-GC

Secvența aminoacizilor în lizozimul produs de bacteriofagul T4 dublu mutant:

Met-Glu-Tir-Ile-Fen-Glu...Met Tre-Liz-Val-His-His-Leu-Met-Ala-Ala

1 2' 2" 3 4 5 6

Fig. IV, 1. Mutații cu „schimbarea cadrului de citire” în genul izozimului de la bacteriofagul T4. Se indică două regiuni din secvența polipeptidică, codonii corespunzători, deleția sau inserția care schimbă gruparea în codonii și inserțiile care „aduc la loc” ulterior cadrul de citire [după A. Tsugita și colab. (47, 61)].

În lipsa pentru moment a unor dovezi directe, respectiv a secvențelor de baze în ADN pentru cazurile în discuție, existența acestor mutații este susținută de posibilitatea interpretării majorității secvențelor observate în proteinele mutante (variantele genetice) (46) sau într-un număr mai mare din proteinele omologe de la specii diferite (24, 25). Astfel, de exemplu, înlocuirea histidinei din poziția 63 a lanțurilor β cu o tirozină în Hb. M. Saskatoon, poate fi explicată printr-o tranziție, codonii¹ (ARN) respectivi fiind CAU și UAU. Există însă și cazuri când sîntem nevoiți să presupunem o transversie. Un exemplu ar fi înlocuirea acidului glutamic din poziția 6 a lanțurilor β cu o valină în „clasica” HbS, codonii respectivi (ARN) fiind GAG și GUA. Un exemplu deosebit de demonstrativ este cel al mutanților de triptofansintetază, studiați de C. Yanofsky și colab. (65) și amintiți de noi (fig. IV, 1)

Așa cum era de așteptat, în cazul proteinelor omologe de la specii diferite, este adesea necesar să presupunem două sau trei mutații punctiforme succesive pentru a ajunge de la un codon la celălalt. Prin urmare, mutația punctiformă ca unitate de modificare ne poate indica distanța în timp între două proteine omologe; mai mică în cazul variantelor de la aceeași specie, mai mare, așa cum o indică numărul de schimburi de baze necesare pentru explicarea diferențelor de secvențe în polipeptide, în cazul proteinelor omologe de la specii diferite.

O mențiune deosebită se face pentru acele mutații care duc la apariția unor codoni ARN „non sens” respectiv: UAG (numit „amber”), UAA („ochre”) și UGA (tabelul IV, 1). Ei servesc drept codoni de terminare a traducerii mARN în secvențe de aminoacizi. Se cunosc la bacterii și virusuri o serie de mutanți, în care apariția prematură a acestor codoni în mARN diferitelor proteine duce la terminarea înainte de capătul C terminal al secvenței polipeptidice, corespunzător cu locul apariției unui „non sens”.

Existența unor asemenea mutanți a permis, de exemplu, stabilirea pentru proteina de înveliș a bacteriofagului T. 4 coliniaritatea genei cu produsul ei (aminoacizii sînt reprezentați în genă în aceeași ordine în care se succed în polipeptidă) (56). Consecințele unui „non sens” pot fi corectate prin așa-numitele mutații supresoare, ce conduc la apariția unor variante de tARN care pot „recunoaște” acești codoni, inserînd un aminoacid în poziția respectivă (27).

Cum enzimele sînt codificate în unități de transcriere a ARN mesager, operonii (41), un „non sens” pe una din gene afectează experimentarea tuturor celor care urmează, evident, cu atît mai puternic, cu cît se găsesc mai aproape de cea afectată (efectul de polaritate) (cit. 27). Nu este exclus ca prin mutații asemănătoare să fie modificat codonul de inițiere (la bacterii AUG), cu care se crede că începe orice mARN. În acest caz nu se va putea iniția biosinteza proteinei. Nu se cunosc pentru moment mutații „non sens” sau pentru codonul de inițiere la organisme superioare.

¹ Deoarece codul genetic a fost stabilit prin lucrările lui H. G. Khorana și colab. și M. Nirenberg și colab. în triplete de ARN mesager, se obișnuiește indicarea codonilor sub această formă. Pentru aflarea secvenței în ADN este necesar să se înlocuiască bazele din ARN cu perechile lor din lanțul codificant de ADN, respectiv: A cu T; G cu C; U cu A; C cu G.

Delețiile și inserțiile sînt un alt tip de mutații, care duc la pierderea (deleția) sau inserția bazelor din secvența ADN. Se pot deosebi două situații:

1. Deleția sau inserția unui codon sau mai multor codoni.

Urmarea unor asemenea modificări este evident pierderea, respectiv introducerea, în secvența polipeptidică a aminoacizilor codificați de codonii în

TABELUL IV, 1
Codonii ARN pentru aminoacizi
(după H. G. Khorana și M. Nirenberg)

B a z e					
Prima (5')	A doua				A treia (3')
	U	C	A	G	
U	Fen	Ser	Tir	Cis	U
	Fen	Ser	Tir	Cis	C
	Leu	Ser	Ochre	„opal”	A
	Leu	Ser	Amber	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Tre	Asn	Ser	U
	Ile	Tre	Asn	Ser	C
	Ile	Tre	Liz	Arg	A
	Met (Inițiere)	Tre	Liz	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gli	U
	Val	Ala	Asp	Gli	C
	Val	Ala	Glu	Gli	A
	Val	Ala	Glu	Gli	G

cauză. Asemenea consecințe sînt reprezentate, de exemplu, prin hemoglobinele Freiburg și Gun Hill, discutate într-un capitol anterior și sînt de presupus în proteinele omologe din cadrul aceleiași specii, cum ar fi lanțul β al hemoglobinei umane și lanțurile γ , δ și înspre capătul N terminal (8), pentru chimotripsina B și tripsina de la bovine (59), corespondența între lanțurile k și λ ale imunoglobinelor umane (53) sau de la specii diferite, citocromii c (42), proteaze (45), gliceraldehid-3-fosfatdehidrogenază (16).

2. Deleția sau inserția unei baze din ADN (în general a unei secvențe de baze care nu se suprapun peste gruparea în codoni).

Acest gen de modificare duce la consecințe deosebit de serioase, deoarece prin modificarea secvenței de baze se schimbă gruparea acestora în codoni, ceea ce duce la o modificare a „cadrului de citire” normal.

Posibilitatea de refacere a cadrului de citire este dată în cazul inserției unei baze de deleția alteia apropiate (și reciproc), așa cum a indicat F.H.C. Crick (cit. 27), ceea ce duce la o proteină „greșită” pe o distanță limitată. O altă posibilitate este, în cazul unei inserții, o a doua mutație care duce la in-

serția încă a două baze în vecinătate (aceeași situație este valabilă și pentru deleții). Consecința unor asemenea corectări este apariția de aminoacizi în plus inserați în secvența polipeptidei (respectiv de pierderea unor aminoacizi în cazul delețiilor) (fig. IV, 2). Nu se cunosc încă asemenea consecințe pentru

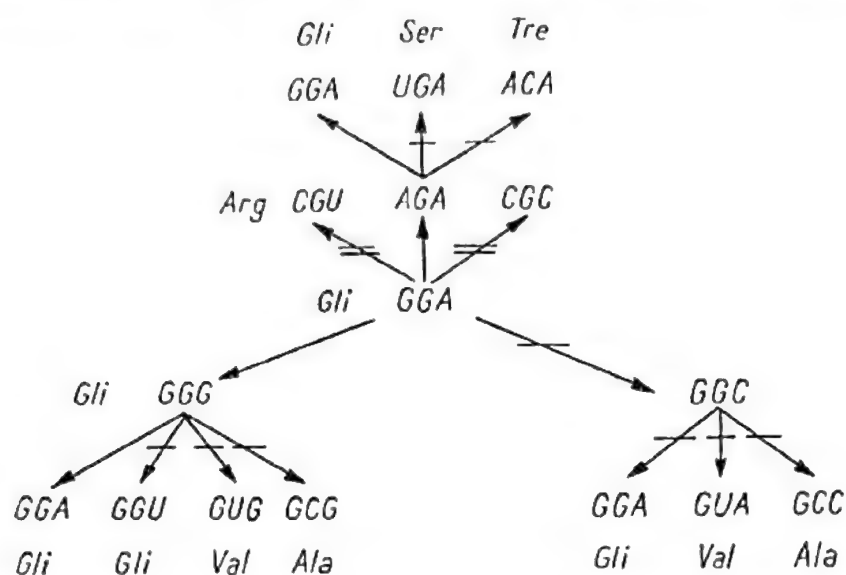


Fig. IV, 2. Mutații prin înlocuiri de baze în codonul glicocolului 210 din secvența proteinei A a triptofansintetazei la *Esch. coli*. Săgețile simple indică tranziții, cele barate cu o linie, transversii, iar cele cu două linii, mutații ce necesită modificarea a mai multe baze din codon [după C. Yanofsky și colab. (66), modificat].

proteinele organismelor superioare, deși, cu siguranță, trebuie să existe, singura dovadă directă fiind câțiva mutanți ai bacteriofagului T 4 (fig. IV, 2).

În mod teoretic se poate presupune că ar trebui să existe și un tip de mutație numit „inversie”. Pare mai probabil ca, în cazul în care admitem posibilitatea unei inversări a secvenței bazelor, acest lucru să se petreacă printr-un schimb între lanțurile moleculei de ADN, acest lucru fiind impus de antiparalelismul lanțurilor (orientarea diferită a legăturilor 3'—5' fosfodiester ce leagă nucleotidele) (fig. IV, 3).

În afara acestor modificări, pentru care avem motive să presupunem că joacă un rol important în diversificarea proteinelor și deci în evoluție, există și altele, ale căror consecințe sînt adesea prea marcate și ar avea consecințe „predominant letale” (25) (fig. IV, 3). Unele din aceste posibilități au fost evidențiate în cazul agenților mutageni. Astfel, tratarea ADN cu anumiți agenți alchilanți duce la pierderi de baze cu întreruperea și destabilizarea dublului helix. Formarea de dimeri între timine a fost observată în cazul acțiunii razelor ultraviolete. Sudarea celor două lanțuri de ADN este mecanismul propus pentru acțiunea acridinei, iar ruperi ale lanțurilor, pentru porțiuni mai scurte sau mai lungi, au fost adesea observate ca rezultat al acțiunii razelor Röntgen.

Presupunerea că aceste modificări ar fi predominant letale atrage după sine și o a doua și anume, că există mecanisme de apărare împotriva unor

asemenea posibilități. De fapt, până acum au fost descrise două tipuri de enzime care „repară” alterările din această grupă. Una dintre acestea este enzima de fotoreactivare descrisă de C. S. Rupert (cit. 25). Enzima se combină cu ADN iradiat cu raze ultraviolete, formînd un complex care disociază prin ilu-

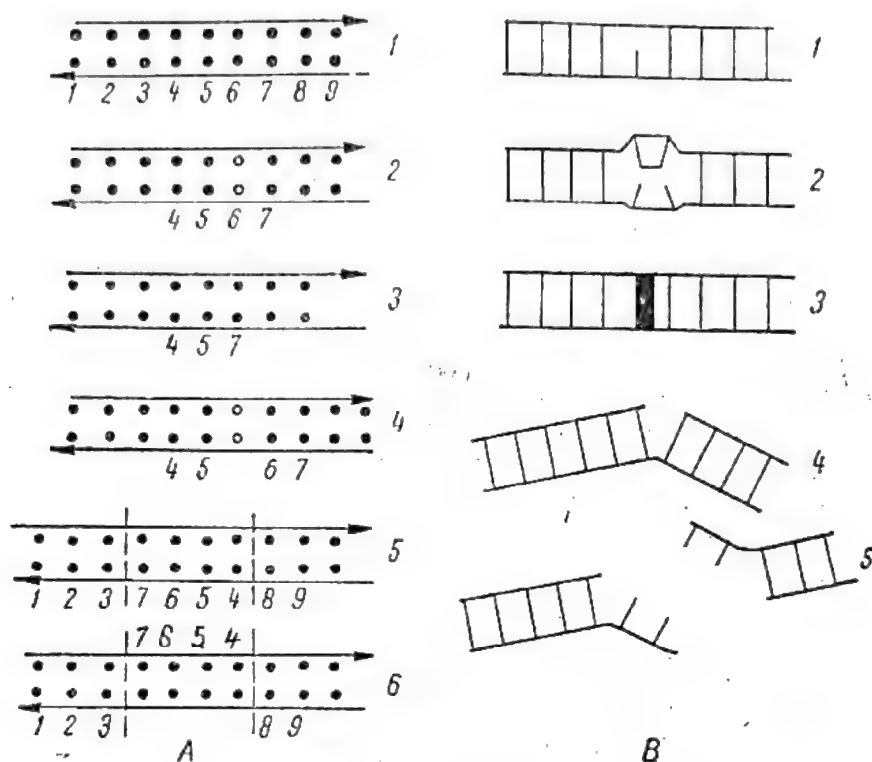


Fig. IV. 3. A — Mutații preponderent „evolutive”:

1 — ADN original; 2 — înlocuirea unei baze; 3 — delația unei baze; 4 — inserția unei baze; 5 — inversie după unul din mecanisme; 6 — inversie după mecanismul care ține cont de antiparalelismul lanțurilor în molecula ADN (vezi sensul săgeților).

B — Mutații preponderent letale:

1 — bază neîmperecheată; 2 — formare de dimeri; 3 — legături covalente între lanțuri; 4 — ruperea unui lanț; 5 — ruperea ambelor lanțuri

[după E. Freese (24, 25), modificat].

minare la $370 \text{ m}\mu$, cu eliberarea timinelor din dimeri. Cealaltă enzimă, descrisă simultan în mai multe laboratoare, este un tip de ADN — polimerază, care reface întreruperile lanțurilor, cu condiția să găsească în regiunea respectivă un lanț pereche întreg (cit. 25).

Se poate obiecta că mecanismele descrise au fost evidențiate prin procedee mutaționale experimentale și că interpretarea lor este extrapolată la variante întâlnite în natură. Deși contribuția agenților mutageni poate fi însemnată în cauzele naturale ale mutațiilor, o importanță deosebită o are un fenomen principal diferit. Similar cu ceea ce se întâmplă în orice activitate, ADN — polimeraza — enzima care duplică ADN înzestrînd descendenții cu copii necesare — are o „rată de greșeli”, care este o proprietate inerentă enzimei și similar cu celelalte proprietăți depinde de structura sa, structură transmisă la rîn-

dul ei ereditar. S-au putut izola astfel celule bacteriene cu o ADN-polimerază cu o frecvență mare de greșeli și altele cu o frecvență mică. Greșelile acestei enzime duc la diversitatea celulelor individuale și putem presupune că există o structură optimă pentru „rata de greșeli” a enzimei care condiționează apariția variantelor necesare „adaptării” la mediul înconjurător (18).

III. DUPLICAREA GENELOR, SECVENȚE REPETITIVE ÎN ADN

Secvențele de aminoacizi, deosebit de asemănătoare în polipeptide, aparținând unor proteine diferite din același organism, au făcut să se imagineze în mod teoretic posibilitatea, duplicarea unei gene (sau unui grup de gene), copiile fiind păstrate în același genom. O asemenea propunere a fost făcută pentru prima dată de V. Ingram pentru lanțurile α (de la mioglobină), α , β , γ și δ ale hemoglobinelor umane (36) (fig. IV, 5). Mecanismul părea cu atât mai probabil, cu cât se cunosc de mult cromozomii giganti de la diptere (cit. 41), alcătuiți din sute de gene identice păstrate în aceeași celulă. Prin perfecționarea metodelor de urmărire a omologiei de secvență, acest mecanism a putut fi propus în foarte multe cazuri. Prezența unor gene în copii multiple este susținută totodată de prezența unor variante genetice pentru același lanț polipeptidic (care nu segregă la descendenți), așa cum este cazul pentru lanțurile Hb. F umane și pentru lanțurile din Hb. de la șoareci (cit. 58) sau pentru variantele Oz ale lanțurilor ușoare umane (53). Odată duplicate, copiile aceleiași gene, inițial alăturate, se pot distanța prin procese de rearanjare a materialului genetic (translocări). Un exemplu ar fi apropierea bine stabilită astăzi (prin compararea secvențelor de aminoacizi, ca și prin alte fapte) între genele lanțurilor hemoglobinei β și δ de la om, care s-au duplicat recent, față de distanța mare la care se găsesc lanțurile α , din precursora căreia au provenit prin duplicări îndepărtate în timp (46, 67).

Mecanismele prin care se ajunge la duplicarea unei gene ancestrale cu păstrarea copiei nu sînt pentru moment, suficient de clare, deși nu încapă îndoială că trebuie să existe. Sugestii despre acestea pot fi sugerate de citogenetica clasică (cit. 46) și de prezența unor variante genetice pentru anumite proteine, în care secvența de aminoacizi este fie mai lungă, fie mai scurtă decît cea obișnuită.

Mecanismul de alungire-scurtare a genelor. S-au descris la om pînă în prezent trei tipuri de hemoglobine anormale, principial diferite de restul tipurilor de variante pentru această proteină. Este vorba de trei hemoglobine (Boston, Hollandia și Baltimore) (5) (cit. 46, 48), Hb. Lepore, în care în locul lanțurilor β și δ obișnuite se găsesc un singur tip de lanțuri „hibride” cu partea N terminală provenită din δ și cea C terminală din β . Proveniența lor se explică prin *crossing over*-uri aberante între genele β și δ , acolo unde secvența bazelor în ADN este asemănătoare. Fenomenul este favorizat de vecinătatea celor 2 gene, așa cum s-a amintit mai sus. După cum rezultă din figura IV, 4, aceste lanțuri sînt mai scurte decît β sau δ normale cu, respectiv 29, 28, și 36 de aminoacizi pierduți (deleție) prin *crossing over*-ul abe-



rant. Acestor lanțuri Lepore ar trebui să le corespundă lanțurile „surori” anti-Lepore, care evident ar fi mai lungi cu numărul corespunzător de aminoacizi, pierduți de primele. Cum însă prin procesele de meioză se pierde una din garniturile de cromozomi inițială, este ușor de înțeles (dată fiind raritatea varianțelor Lepore) de ce nu au fost găsiți indivizi care să le poarte. În cazul unei alte proteine umane, consecutiv unui mecanism aparent similar, au fost găsite

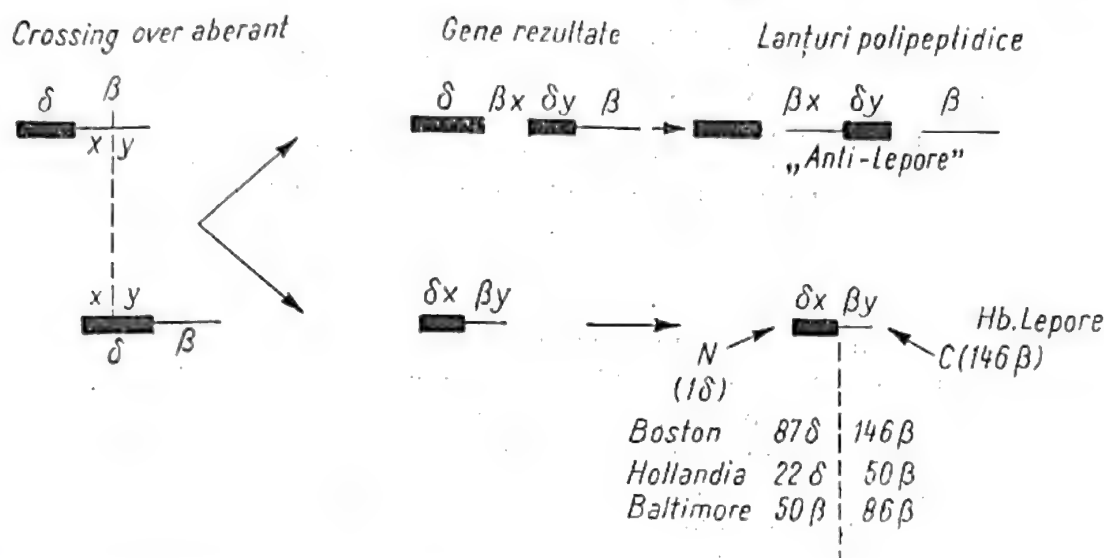


Fig. IV, 4. Mecanismul prin care apar lanțurile non- α în Hemoglobinele Lepore. De remarcă *crossing-over* aberant între porțiunile notate cu x și y [după C. Baglioni (5), modificat].

din contra numai variantele cu lanțuri sudate mai lungi. Este vorba despre subunitățile α_2 din tipurile de haptoglobine Hp. 2 (6), unde este vorba de o cvasidublare a secvenței de aminoacizi a lanțurilor α obișnuite sau de o triplare la subunitățile J α_2 , prin unirea (aproape în întregime) a 2, respectiv 3 lanțuri α (cit. 46) (fig. IV, 10). Deși *crossing over*-ul aberant poate explica secvențe repetative într-un lanț polipeptidic, el nu poate da socoteală de apariția a 2 gene din una singură. Pentru aceasta este necesar să presupunem intervenția ulterioară a unor mutații de tipul celor discutate, care să conducă la apariția codonilor de terminare („non-sens”) și a celor de inițiere în (sau aproape de) locul de început al repetiției. Exemple de felul celor două amintite vor fi menționate cu ocazia discutării unor proteine individuale. Acest gen de fapte postulează teoretic necesitatea prezenței unor gene multiple pentru lanțuri polipeptidice identice sau foarte asemănătoare ca secvență la organisme superioare (omologie intraspecie).

Este de așteptat ca dovezile să fie cu atât mai semnificative, cu cât se studiază „semantide” cu conținut informațional mai mare, respectiv acizii nucleici și în special ADN, materialul din care sînt formate nemijlocit genele. Desigur, ideal ar fi să se cunoască secvența de baze în ADN celulelor, dar cum acest lucru nu este posibil momentan, din rațiuni tehnice, investigațiile au fost făcute prin alte mijloace de abordare.

Astfel, faptul că prin încălzire dublele elici ale moleculelor de ADN izolate de la diferite specii de viețuitoare pot să se desfacă și să se refacă prin răcire treptată, a furnizat un mijloc deosebit de eficace pentru studiu.

Evident, cu cât lanțurile își vor găsi mai ușor în amestecul de reacție parteneri complementari, în cazul existenței de secvențe de baze repetitive, cu atât refacerea de duble elici va decurge mai repede. Calculele cineticii de refacere a dublelor elici au indicat prezența de gene multiplicate (secvențe repetitive) în proporție de 40% din total, dintre care unele (în jur de 20%) repetate între 10 000 și 100 000 de ori (9, 10). Viețuitoarele inferioare au din ce în ce mai puține secvențe repetitive, astfel că detectarea lor nu mai poate fi făcută prin acest procedeu pentru bacterii. Creșterea cantității de ADN de 1 000 de ori de la bacterii la manifere s-a produs după toate aparențele prin procese (foarte probabil „în salturi” și nu continuu) de multiplicare a genelor (44).

Se bănuiește chiar, pe baza unor argumente întemeiate, că în general speciile au evoluat în principiu până în prezent, mai ales prin multiplicarea genelor și că diversificarea acestora (prin mutații) este abia la început (44).

În timpul evoluției organismelor prin procesele mutaționale, genele repetate, inițial identice, se modifică, astfel că hibridizarea între lanțuri de ADN de la specii diferite este cu atât mai greu de realizat, cu cât organismele sînt mai îndepărtate. Acest criteriu poate servi de asemenea pentru indicarea gradului de înrudire între specii (cit. 63).

Separarea diverselor tipuri de ARN — „produsul imediat al genelor” — și efectuarea unor studii asemănătoare cu formare de duble elici cu un lanț ARN și celălalt de ADN dă posibilitatea aprecierii numărului de reprezentări pentru secvența ARN respectiv. Asemenea experiențe făcute cu ARN ribozomiali, care pot fi izolați în stare pură, a permis să se stabilească că aceștia sînt codificați de gene multiplicate într-un grad cu atât mai mare, cu cât este vorba de un organism superior. Astfel, la bacterii, gradul de multiplicare pentru ARN ribozomial este între 10 și 50 de ori, la *Drosophila* în jur de 130 de ori, iar la iepure de 1 500 de ori (cit. 62, 64). Aplicînd procedee similare de hibridare, dar între lanțuri ADN de la o specie și ARN de la altă specie, se poate aprecia gradul de omologie între ARN, produși de genomurile respective. Evident, rezultatele obținute au arătat o diversitate cu atât mai mare, cu cât speciile organismelor erau mai diferite. Deosebit de semnificativ este însă faptul că în stadiile timpurii ale embriogenezei, ARN izolat de la specii diferite, hibridiza aproape la fel de bine cu ADN-ul speciei comparate ca și cu cel propriu (65). Aceasta este o primă indicație că ARN și deci și proteinele codificate în aceștia sînt cu atât mai asemănătoare între ele, cu cît organismul este într-un stadiu de ontogeneză mai timpurie. Cu alte cuvinte se poate afirma că avem o primă dovadă în biologia moleculară a celebrei teze a lui E. Haeckel, după care „ontogenia repetă filogenia” (38).

Semnificația majoră a avantajelor evolutive furnizate de multiplicarea genelor deja amintită va fi subliniată într-un capitol următor. O dată stabilit faptul că acest fenomen este o realitate, ne putem propune urmărirea diversificării treptate a seturilor de gene repetitive.

Astfel, faptul că prin încălzire dublele elici ale moleculelor de ADN izolate de la diferite specii de viețuitoare pot să se desfacă și să se refacă prin răcire treptată, a furnizat un mijloc deosebit de eficace pentru studiu.

Evident, cu cât lanțurile își vor găsi mai ușor în amestecul de reacție parteneri complementari, în cazul existenței de secvențe de baze repetitive, cu atât refacerea de duble elici va decurge mai repede. Calculele cineticii de refacere a dublelor elici au indicat prezența de gene multiplicate (secvențe repetitive) în proporție de 40% din total, dintre care unele (în jur de 20%) repetate între 10 000 și 100 000 de ori (9, 10). Viețuitoarele inferioare au din ce în ce mai puține secvențe repetitive, astfel că detectarea lor nu mai poate fi făcută prin acest procedeu pentru bacterii. Creșterea cantității de ADN de 1 000 de ori de la bacterii la mamifere s-a produs după toate aparențele prin procese (foarte probabil „în salturi” și nu continuu) de multiplicare a genelor (44).

Se bănuiește chiar, pe baza unor argumente întemeiate, că în general speciile au evoluat în principiu pînă în prezent, mai ales prin multiplicarea genelor și că diversificarea acestora (prin mutații) este abia la început (44).

În timpul evoluției organismelor prin procesele mutaționale, genele repetate, inițial identice, se modifică, astfel că hibridizarea între lanțuri de ADN de la specii diferite este cu atât mai greu de realizat, cu cât organismele sînt mai îndepărtate. Acest criteriu poate servi de asemenea pentru indicarea gradului de înrudire între specii (cit. 63).

Separarea diverselor tipuri de ARN — „produsul imediat al genelor” — și efectuarea unor studii asemănătoare cu formare de duble elici cu un lanț ARN și celălalt de ADN dă posibilitatea aprecierii numărului de reprezentări pentru secvența ARN respectiv. Asemenea experiențe făcute cu ARN ribozomiali, care pot fi izolați în stare pură, a permis să se stabilească că aceștia sînt codificați de gene multiplicate într-un grad cu atât mai mare, cu cât este vorba de un organism superior. Astfel, la bacterii, gradul de multiplicare pentru ARN ribozomial este între 10 și 50 de ori, la *Drosophila* în jur de 130 de ori, iar la iepure de 1 500 de ori (cit. 62, 64). Aplicînd procedee similare de hibridare, dar între lanțuri ADN de la o specie și ARN de la altă specie, se poate aprecia gradul de omologie între ARN produși de genomurile respective. Evident, rezultatele obținute au arătat o diversitate cu atât mai mare, cu cât speciile organismelor erau mai diferite. Deosebit de semnificativ este însă faptul că în stadiile timpurii ale embriogenezei, ARN izolat de la specii diferite, hibridiza aproape la fel de bine cu ADN-ul speciei comparate ca și cu cel propriu (65). Aceasta este o primă indicație că ARN și deci și proteinele codificate în aceștia sînt cu atât mai asemănătoare între ele, cu cât organismul este într-un stadiu de ontogeneză mai timpurie. Cu alte cuvinte se poate afirma că avem o primă dovadă în biologia moleculară a celebrei teze a lui E. Haeckel, după care „ontogenia repetă filogenia” (38).

Semnificația majoră a avantajelor evolutive furnizate de multiplicarea genelor deja amintită va fi subliniată într-un capitol următor. O dată stabilit faptul că acest fenomen este o realitate, ne putem propune urmărirea diversificării treptate a seturilor de gene repetitive.

IV. DIVERSIFICAREA GENELOR ȘI SELECȚIA PROTEINELOR CODIFICATE

Existența de gene duplicate pentru același lanț polipeptidic dă posibilitatea evoluției libere a uneia din ele, prin acumulări succesive de mutații spre o perfecționare a tipului de activitate de bază mai potrivită unor condiții metabolice noi sau chiar de a evolua la o funcție principală nouă. Mutațiile genei originare vor fi selecționate evident mai puternic decât a copiilor, dată fiind necesitatea păstrării activității în anumite limite.

Aceasta depinde, simplificând lucrurile, după cum mutațiile apar pentru aminoacizi îndepărtați structural de „centrul activ” sau pentru aminoacizii „cu rol catalitic direct” (45). Acest postulat are mai multe consecințe:

a) Este de așteptat ca într-un organism să se găsească mai multe tipuri de lanțuri polipeptidice cu aceeași activitate fundamentală, dar cu deosebiri în parametrii ce o caracterizează.

b) Unele din proteinele provenite prin duplicarea genei ancestrale pot fi lipsite de vreo activitate semnificativă (44, 45). Acestea și-ar „căuta” semnificația funcțională tocmai în prezent. Un exemplu ar fi fracțiunea III a procarboxipeptidazei cu o origine aparent comună cu fracțiunea II activă (45).

c) Pot exista proteine cu activități marcat diferite, cu toate că sînt omologe și au o origine comună [pentru un eventual exemplu vezi omologia între aldolază și serinproteaze (42)].

Toate aceste trei posibilități fac parte din ceea ce se numește evoluție divergentă (68). O consecință logică a punctelor (b) și (c) este că poate exista și o evoluție convergentă, în care polipeptide cu origini filogenetice diferite au ajuns la activități analoge. Exemple pentru evoluția convergentă nu lipsesc, deși, ca mecanism, ea este mult mai puțin probabilă (68).

Din considerentele de mai sus reiese necesitatea aplicării unor metode statistice în compararea secvențelor de proteine omologe, tocmai pentru a exclude o potrivire întâmplătoare (21).

Pentru asemenea exemplificări, cea mai potrivită discuție este asupra diverselor tipuri de hemoglobină, care, așa cum s-a mai amintit, este cea mai binecunoscută proteină în biochimie. Se cunosc astăzi peste 30 de secvențe de aminoacizi pentru globine izolate de la o mare varietate de specii de mamifere superioare și inferioare, vertebrate inferioare și chiar de la insecte (cit. 46, 68), a căror asemănare exclude întâmplarea. Compararea acestora a dus la concluzii importante. Astfel, comparînd lanțuri de globine echivalente, de exemplu, lanțuri α de la specii diferite, și cunoscînd perioada cînd speciile respective s-au despărțit în filogenie, se poate deduce rata de schimbări în secvență per timp (de obicei, în înlocuiri-deleții-insertii 100 000 000 de ani). Acest mod de abordare este foarte probabil corect, căci după cum se vede din tabelul IV, 2, există o relație directă între numărul de deosebiri și îndepărtarea filogenetică a speciilor de proveniență a globinelor. Comparînd apoi între ele globinele omologe, de exemplu, lanțurile α și β umane, unul cu altul, se poate deduce (cunoscînd rata de înlocuiri pentru fiecare) perioada cînd copiii respective au început să evolueze independent. Cu alte cuvinte se poate stabili

TABELUL IV, 2

Numărul înlocuirilor de aminoacizi în lanțurile α și β ale hemoglobinelor de la diverse specii, comparativ cu lanțurile α și β de la om (după G. Braunitzer și colab.)

	Cal	Porc	Bovindee	Șoarece	Lamă	Oale	Iepure	Crap
Lanț α uman	(18)	17	17	16	19	20	24	69
Lanț β uman	24	23	(27)	—	21	A 22 B 23 C 28	14	—

momentul duplicării genei ancestrale comune. Astfel, pentru globinele umane, deosebirile cele mai mari se observă între lanțurile α și δ (83), comparativ cu cele între α și β (78). De aici se poate stabili că ancestorul comun pentru α și δ este mai vechi decât cel pentru α și β . Similar, după numărul de deosebiri între β și γ (36) și între β și δ (10), se poate deduce că genele pentru β și δ s-au despărțit cel mai recent (35) (cit. 68). Secvența cea mai îndepărtată de

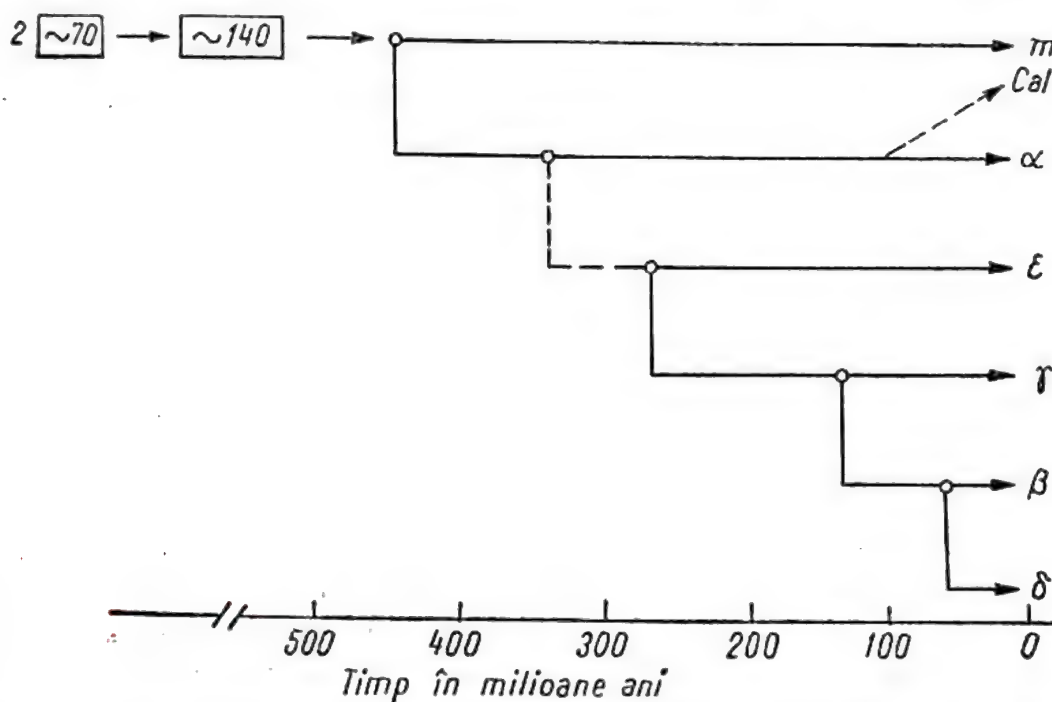


Fig. IV, 5. Schema evoluției lanțurilor de globine. Pentru detalii, vezi textul [după V. M. Ingram (36) și V. Braun și colab. (7), modificat].

toate aceste lanțuri este cea a mioglobinei, ceea ce justifică indicarea genei acesteia ca urmașul direct al ancestorului comun pentru toate globinele umane.

Compararea secvenței de aminoacizi din prima jumătate a mioglobinei cu cea din a doua a reușit să indice un grad de omologie semnificativ mai mare decât o potrivire întâmplătoare.

Se poate presupune astfel că gena mioglobinei a provenit prin duplicarea cu sudarea „cap la coadă” a unei gene originare ce codifică o polipeptidă cu aproximativ 70 de aminoacizi. La un moment dat, în evoluție, această genă

dublată s-a duplicat, una din copii ducând în linie directă la mioglobina actuală. Cealaltă, printr-un proces de translocare, s-a îndepărtat în cromozom de locul pe care îl ocupa inițial. Ulterior, aceasta, la rândul ei prin duplicare, a dat naștere la două gene: una care a evoluat spre cea pentru lanțurile α actuale, cealaltă suferind un proces de translocare similar precedentului. Prin duplicarea acesteia din urmă au apărut alte două gene, una care a condus la

gena lanțurilor γ actuale, cealaltă urmînd modelul de translocare de mai sus. Ultimele 2 gene apărute, prin duplicarea precedentei, sînt cele care au evoluat spre genele β și δ actuale, încă strîns învecinate (netranslocate) (vezi mai sus). Descoperirea lanțurilor ϵ a dus la completarea schemei prin intercalarea unei trepte în plus între gena lanțurilor α și cea care a dat apoi naștere celor pentru γ , β și δ (fig. IV, 5). O schemă, poate mai apropiată de realitate, este cea din figura IV, 6, în care evoluția acestor gene este figurată printr-o linie continuă între gena mioglobinei ancestrale și cea a lanțurilor δ umane actuale, din care s-au desprins (și translocat) genele celorlalte lanțuri. Procesul de duplicare, evidențiat prin studiile de mai sus, este de fapt cu mult mai pronunțat, dovezi pentru aceasta fiind aduse de descoperirea a 3 gene pentru lanțurile β la om, din

care 2 gene codifică exact aceeași secvență de aminoacizi, iar cealaltă o secvență modificată numai într-un singur loc din secvență (58) (cit. 32). Similar au fost descrise mai multe gene nealele pentru lanțurile α la cal și capră și β la oaie (cit. 46). După această ipoteză ar fi de așteptat ca pe scara evoluției să se găsească la animale diferite un număr diferit de gene pentru globină. De fapt, la unul din cele mai primitive vertebrate, *Lampetra fluviatilis*, au fost descrise 4 tipuri de globine (2 tipuri embrionare și 2 tipuri la adult), care nu se asociază însă în tetrameri decît foarte slab în stare deoxigenată. Deosebiri între secvențele de aminoacizi ale acestora și lanțurile globinelor de la mamifere se apropie de numărul diferențelor, observat între acestea și mioglobina de la balenă. Aceasta indică, conform principiului amintit mai sus, că ancestorul comun pentru lanțurile globinelor de la mamifere și cele de la *Lampetra* a apărut în timp cu foarte puțin după duplicarea genei inițiale a mioglobinei (46) (tabelul IV, 3).

Mutațiile suferite de genele duplicate ale diverselor globine au condus în final la diversitatea actuală a secvențelor de globine. Din compararea acestora s-a tras concluzia importantă că mutațiile reținute în evoluție nu sînt întîmplătoare. Chiar dacă este de așteptat ca unele schimburi de aminoacizi să nu se repercuteze asupra activității proteinei în mod marcat (așa cum se observă

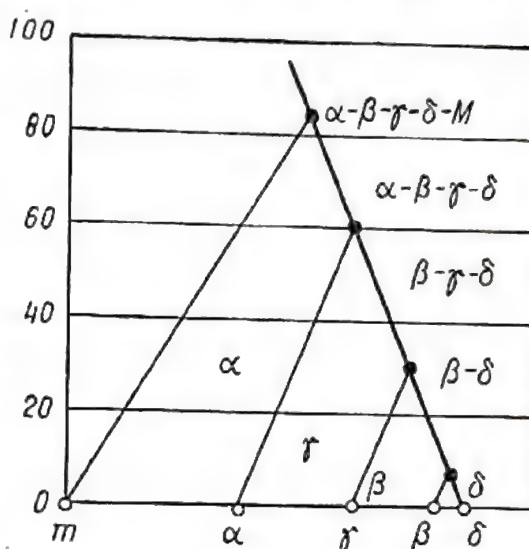


Fig. IV, 6. Schema evoluției lanțurilor globinelor [după E. Zuckerkandl și L. Pauling (68, 69)]. Pe ordonată, numărul maxim de deosebiri, pe abscisă, genele rezultate.

TABELUL IV, 3

Numărul resturilor de aminoacizi prin care diferă lanțurile globinelor
(după C. Nolan și E. Margoliash)

Toate globinele		Globinele din Hb. de la mamifere	
Lanțuri comparate	Nr. de schimbări	Lanțuri comparate	Nr. de schimbări
Mioglobina de balenă — toate globinele	114—125	Lanțuri α cu lanțuri α între ele	0—28
Hemoglobină <i>Lampetra</i> -toate celelalte globine	107—118	Lanțuri α de la primat între ele	0—26
Lanțuri α — lanțuri non α	76—95	Lanțuri α umane cu lanțuri α de la maimuțe inferioare	15—24
Lanț α de la crap — Lanț α mamifere	54—62	Lanțuri α de la primat — lanțuri non α	16—28
Lanț γ uman — toate celelalte lanțuri non α	36—48	Lanțuri β cu lanțuri β între ele	0—48
Lanț δ uman — lanț β uman	10	Lanțuri β de la primat între ele	0—41
Lanțuri α cu α între ele	0—62	Lanț β uman cu lanțurile β de la maimuțe inferioare	29—31
Lanțuri non α cu non α între ele	0—49	Lanțuri β de la primat — cu lanțuri β de la alte animale	24—48

pentru diversele variante de hemoglobine umane), faptul că lanțurile echivalente de la specii diferite (lanțurile α) diferă mai puțin între ele decât față de lanțurile omologe din aceeași specie (față de β umane) este o primă indicație despre necesitatea păstrării unui tip de structură. De fapt, încercările de a potrivi secvențele de aminoacizi cunoscute pentru diversele globine în modelele spațiale ale mioglobinei și hemoglobinei au arătat că acestea se pot adapta aproape perfect (cu unele mici caracteristici individuale). Este ceea ce se numește omologia de structură tridimensională (45). Din acest motiv, atunci când se compară secvențele globinelor, este mai potrivit de indicat poziția aminoacidului respectiv după regiunea Kendrew a structurii tridimensionale (41) (tabelul IV, 4).

În toate globinele cunoscute sînt păstrate cîteva resturi de aminoacizi strict invariabile în aceeași poziție (după sistemul de numerotare Kendrew). Putem presupune că acestea sînt absolut necesare în păstrarea configurației tridimensionale a globinei care asigură activitatea fundamentală a mio- și hemoglobinelor de legare reversibilă a oxigenului. Este vorba despre resturile Fen CD 1, His E 7, Leu F 4, His F 8, Liz H 10 și Tir H 23. Importanța unora din aceste resturi a fost subliniată cu ocazia discutării într-un capitol anterior a unor variante de hemoglobine anormale umane cu semnificație patologică. Este cazul „bolilor moleculare” Hb. M. Boston și Hb. M. Saskatoon (înlocuirea His E 7), Hb. M. Iwate și Hb. M. Hyde Park (înlocuirea His F 8), Hb. Torino și Hb. Hammersmith (schimbarea Fen CD 1) sau Hb. Santa Ana (înlocuirea Leu F 4).

TABELUL IV, 4

Secvențele de aminoacizi în lanțurile m de la om, balenă α , β , γ , δ din Hb, umane

Lanț m uman	Lanț m Poz.	Lanț α Poz.	Lanț β Poz.	Lanț γ Poz.	Lanț δ Poz.	Regiunea Kendrew
Gli	1 Val	1 Val	1 Val	1 Val	1 Val $\alpha_1\alpha_2$	NAI
	2 Leu	2 Leu	2 His	2 His	2 His	
	3 Ser	3 Ser	3 Leu	3 Fen	3 Leu	
	4 Glu	4 Pro	4 Tre	4 Tre	4 Tre 1	
Asx	5 Gli	5 Ala	5 Pro	5 Pro	5 Pro ↑	SN
	6 Glu	6 Asp	6 Glu	6 Glu	6 Glu	
	7 Trp	7 Liz	7 Glu	7 Glu	7 Glu	
	8 Gln	8 Tre	8 Liz	8 Liz	8 Liz	
Pauză	9 Leu	9 Asp	9 Ser	9 Ala	9 Tre	● A
	10 Val	10 Val	10 Ala	10 Tre	10 Ala	
	11 Leu	11 Liz	11 Val	11 Ile	11 Val	
Asx	12 His	12 Ala	12 Tre	12 Tre	12 Asn	●
	13 Val	13 Ala	13 Ala	13 Ser	13 Ala	
	14 Trp	14 Trp	14 Leu	14 Leu	14 Leu	
Gli	15 Ala	15 Gli	15 Trp	15 Trp	15 Trp	●
	16 Liz	16 Liz	16 Gli	16 Gli	16 Gli	
	17 Val	17 Val	17 Liz	17 Liz	17 Liz	
	18 Glu	18 Gli	18 Val	18 Val	18 Val 15	
Pro	19 Ala	19 Ala	19 Asp	19 Asp	19 Asp	AB
	20 Asp	20 His				
Ile	21 Val	21 Ala	20 Val	20 Val	20 Val 1	SP
	22 Ala	22 Gli	21 Asp	21 Gln	21 Asp ↑	
	23 Gli	23 Glu	22 Glu	22 Asp	22 Ala	
	24 His	24 Tir	23 Val	23 Ala	23 Val	
	25 Gli	25 Gli	24 Gli	24 Gli	24 Gli	
	26 Gln	26 Ala	25 Gli	25 Gli	25 Gli	
Glx Val	27 Asp	27 Glu	26 Glu	26 Glu	26 Glu	SP ● B ● SP $\alpha_1\beta_1$ ● ● $\alpha_1\beta_1$
	28 Ile	28 Ala	27 Ala	27 Tre	27 Ala	
	29 Leu	29 Leu	28 Lei	28 Leu	28 Leu	
	30 Ile	30 Glu	29 Gli	29 Gli	29 Gli	
	31 Arg	31 Arg	30 Arg	30 Arg	30 Arg	
	32 Leu	32 Met	31 Leu	31 Leu	31 Leu	
	33 Fen	33 Fen	32 Leu	32 Leu	32 Leu	
	34 Liz	34 Leu	33 Val	33 Val	33 Val 16	
Gli	35 Ser	35 Ser	34 Val	34 Val	34 Val ↓ 1	$\alpha_1\beta_2$ $\alpha_1\beta_2$ O h C SP $\alpha_1\beta_2$ $\alpha_1\beta_2$ O h CD
	36 His	36 Fen	35 Tir	35 Tir	35 Tir	
	37 Pro	37 Pro	36 Pro	36 Pro	36 Pro	
	38 Glu	38 Tre	37 Trp	37 Trp	37 Trp	
	39 Tre	39 Tre	38 Tre	38 Tre	38 Tre	
	40 Leu	40 Liz	39 Glu	39 Glu	39 Glu	
	41 Glu	41 Tre	40 Arg	40 Arg	40 Arg ↓ 7	
	42 Liz	42 Tir	41 Fen	41 Fen	41 Fen	
	43 Fen	43 Fen	42 Fen	42 Fen	42 Fen	
	44 Asp	44 Pro	43 Glu	43 Asp	43 Glu	

TABELUL IV, 4 (continuare)

Lanț m uman	Lanț m Poz.	Lanț α Poz.	Lanț β Poz.	Lanț γ Poz.	Lanț δ Poz.	Regiunea Kendrew
Liz	45 Arg	45 His	44 Ser	44 Ser	44 Ser	SP hm
	46 Fen	46 Fen	45 Fen	45 Fen	45 Fen	O
	47 Liz		46 Gli	46 Gli	46 Gli	
	48 His	47 Asp	47 Asp	47 Asn	47 Asp	
	49 Leu	48 Leu	48 Leu	48 Leu	48 Leu	SN
	50 Liz	49 Ser	49 Ser	49 Ser	49 Ser	SP
Ser	51 Tre	50 His	50 Tre	50 Ser	50 Ser	
	52 Glu		51 Pro	51 Ala	51 Pro	$\alpha_1\beta_1$
Asp	53 Ala		52 Asp	52 Ser	52 Asp	
	54 Glu		53 Ala	53 Ala	53 Ala	D
	55 Met		54 Val	54 Ile	54 Val	●
	56 Liz		55 Met	55 Met	55 Met	$\alpha_1\beta_1$
	57 Ala	51 Gli	56 Gli	56 Gli	56 Gli	
	58 Ser	52 Ser	57 Asn	57 Asn	57 Asn	SP
	59 Glu	53 Ala	58 Pro	58 Pro	58 Pro	
	60 Asp	54 Glu	59 Liz	59 Liz	59 Liz	
	61 Leu	55 Val	69 Val	60 Val	60 Val	●
	62 Liz	56 Liz	61 Liz	61 Liz	61 Liz	SP
	63 Liz	57 Gli	62 Ala	62 Ala	62 Ala	
	64 His	58 His	63 His	63 His	63 His	SP d, h
	65 Gli	59 Gli	64 Gli	64 Gli	64 Gli	●
Ala	66 Val	60 Liz	65 Liz	65 Liz	65 Liz	
	67 Tre	61 Liz	66 Liz	66 Liz	66 Liz	SP
	68 Val	62 Val	67 Val	67 Val	67 Val	● h E
	69 Leu	63 Ala	68 Leu	68 Leu	68 Leu	O
	70 Tre	64 Asp	69 Gli	69 Tre	69 Gli	
	71 Ala	65 Ala	70 Ala	70 Ser	70 Ala	h
	72 Leu	66 Leu	71 Fen	71 Leu	71 Fen	●
	73 Gli	67 Tre	72 Ser	72 Gli	72 Ser	
Gli	74 Ala	68 Asn	73 Asp	73 Asp	73 Asp	
	75 Ile	69 Ala	74 Gli	74 Ala	74 Gli	●
	76 Leu	70 Val	75 Leu	75 Ile	75 Leu	O
	77 Liz	71 Ala	76 Ala	76 Liz	76 Ala	
	78 Liz	72 His	77 His	77 His	77 His	1 SP
	79 Liz	73 Val	78 Leu	78 Leu	78 Leu	
	80 Gli	74 Asp	79 Asp	79 Asp	79 Asp	
	81 His	75 Asp	80 Asn	80 Asp	80 Asn	SP EF
	82 His	76 Met	81 Leu	81 Leu	81 Leu	
	83 Glu	77 Pro	82 Liz	82 Liz	82 Liz	
	84 Ala	78 Asn	83 Gli	83 Gli	83 Gli	
	85 Glu	79 Ala	84 Tre	84 Tre	84 Tre	pauză
Ile	86 Leu	80 Leu	85 Fen	85 Fen	85 Fen	O
	87 Liz	81 Ser	86 Ala	86 Ala	86 Ala	
	88 Pro	82 Ala	87 Tre	87 Glu	87 Tre	
	89 Leu	83 Leu	88 Leu	88 Leu	88 Leu	SN h
	90 Ala	84 Ser	89 Ser	89 Ser	89 Ser	
	91 Glu	85 Asp	90 Glu	90 Glu	90 Glu	F
	92 Ser	86 Leu	91 Leu	91 Leu	91 Leu	
	93 His	87 His	92 His	92 His	92 His	SP p, h

TABELUL IV, 4 (continuare)

Lant m uman	Lant m Poz.	Lant α Poz.	Lant β Poz.	Lant γ Poz.	Lant δ Poz.	Regiunea Kendrew
	94 Ala	88 Ala	93 Cis	93 Cis	93 Cis	9 SN
	95 Tre	89 His	94 Asp	94 Asp	94 Asp	SP
	96 Liz	90 Liz	95 Liz	95 Liz	95 Liz	SP
	97 His	91 Leu	96 Leu	96 Leu	96 Leu	hm FG
	98 Liz	92 Arg	97 His	97 His	97 His	SP $\alpha_1\beta_2$
Val	99 Ile	93 Val	98 Val	98 Val	98 Val	O h
	100 Pro	94 Asp	99 Asp	99 Asp	99 Asp	
	101 Ile	95 Pro	100 Pro	100 Pro	100 Pro	1 SN
	102 Liz	96 Val	101 Glu	101 Glu	101 Glu	$\alpha_1\beta_2$
	103 Leu	97 Asn	102 Asn	102 Asn	102 Asn	
	104 Tir	98 Fen	103 Fen	103 Fen	103 Fen	O h
	105 Glu	99 Liz	104 Arg	104 Liz	104 Arg	
	106 Fen	100 Leu	105 Leu	105 Leu	105 Leu	SN
	107 Ile	101 Leu	106 Leu	106 Leu	106 Leu	O h
Ala	108 Ser	102 Ser	107 Gli	107 Gli	107 Gli	
	109 Glu	103 His	108 Asn	108 Asn	108 Asn	SP
	110 Ala	104 Cis	109 Val	109 Val	109 Val	O
	111 Ile	105 Leu	110 Leu	110 Leu	110 Leu	O
Val	112 Ile	106 Leu	111 Val	111 Val	111 Val	
Asp	113 His	107 Val	112 Cis	112 Tre	112 Cis	
	114 Val	108 Tre	113 Val	113 Val	113 Val	
	115 Leu	109 Leu	114 Leu	114 Leu	114 Leu	O
Glu	116 His	110 Ala	115 Ala	115 Ala	115 Ala	$\alpha_1\beta_1$
	117 Ser	111 Ala	116 His	116 Ile	116 Arg	19 $\alpha_1\beta_1$
Liz	118 Arg	112 His	117 His	117 His	117 Asn	SP
	119 His	113 Leu	118 Fen	118 Fen	118 Fen	
	120 Pro	114 Pro	119 Gli	119 Gli	119 Gli	$\alpha_1\beta_1$
	121 Gli	115 Ala	120 Liz	120 Liz	120 Liz	GH
	122 Asn	116 Glu	121 Glu	121 Glu	121 Glu	
	123 Fen	117 Fen	122 Fen	122 Fen	122 Fen	$\alpha_1\beta_1$
	124 Gli	118 Tre	123 Tre	123 Tre	123 Tre	1 $\alpha_1\beta_1$
	125 Ala	119 Pro	124 Pro	124 Pro	124 Pro	
	126 Asp	120 Ala	125 Pro	125 Glu	125 Glu	
	127 Ala	121 Val	126 Val	126 Val	126 Ala	SN
	128 Glu	122 His	127 Glu	127 Glu	127 Glu	SP
	129 Gli	123 Ala	128 Ala	128 Ala	128 Ala	SN
	130 Ala	124 Ser	129 Ala	129 Ser	129 Ala	
	131 Met	125 Leu	130 Tir	130 Tre	130 Tir	●
	132 Asn	126 Asp	131 Glu	131 Glu	131 Glu	SP
	133 Liz	127 Liz	132 Liz	132 Liz	132 Liz	SP
	134 Ala	128 Fen	133 Val	133 Met	133 Val	●
	135 Leu	129 Leu	134 Val	134 Val	134 Val	●
	136 Glu	130 Ala	135 Ala	135 Tre	135 Ala	H
	137 Leu	131 Ser	136 Gli	136 Gli	136 Gli	
	138 Fen	132 Val	137 Val	137 Ala	137 Val	● h
	139 Arg	133 Ser	138 Ala	138 Ala	138 Ala	
	140 Liz	134 Tre	139 Asn	139 Ser	139 Asn	SP $\beta_1\beta_2$
	141 Asp	135 Val	140 Ala	140 Ala	140 Ala	
Met	142 Ile	136 Leu	141 Leu	141 Leu	141 Leu	●
	143 Ala	137 Tre	142 Ala	142 Ser	142 Ala	$\beta_1\beta_2$

TABELUL IV, 4 (continuare)

Lanț m uman	Lanț m Poz.	Lanț α Poz.	Lanț β Poz.	Lanț γ Poz.	Lanț δ Poz.	Regiunea Kendrew
Ser	144 Ala	138 Ser	143 His	143 Ser	143 His	● SP $\beta_1\beta_2$
Asp	145 Liz	139 Liz	144 Liz	144 Arg	144 Liz	
	146 Tir	140 Tir	145 Tir	145 Tir	145 Tir	
	147 Liz	141 Arg	146 His	146 His	146 His	
	148 Glu					
	149 Leu					
Fen	150 Gli					↑ 25
	151 Tir					
	152 Gln					
	153 Gli					HC5

Urmărind însă modul în care au fost înlocuiți aminoacizii în diversele secvențe, se poate observa faptul că se respectă anumite reguli. Astfel, din 23 de resturi de aminoacizi care sînt orientați înspre interiorul plierii lanțului polipeptidic, în toate globinele cunoscute, cel puțin 27 sînt apolari; restul de 6 fiind ocazional înlocuiți și cu resturi polare. Din 115—116 resturi comparabile la suprafața fiecărui lanț de globină 9 sînt ocupate invariabil de resturi apolare. Unii dintre aceștia au semnificații deosebite, cum ar fi resturile de prolină, pentru întreruperea α -helixurilor sau anumitele grupări în relație cu hemul. Alte 22 de locuri de la suprafața lanțurilor de globină sînt ocupate invariabil de resturi polare (cit. 46), de asemenea cu funcții speciale, cum ar fi contacte cu hemul, legături intralanț sau interlanțuri în hemoglobinele tetramer. Din acest gen de date s-a definit noțiunea de „schimb de aminoacizi echivalent”, ceea ce semnifică înlocuirea unui rest cu altul cu proprietăți asemănătoare. Un exemplu ar fi glicocolul din E 8 înlocuit în lanțurile α ale hemoglobinei bovine cu o alanină. Acest glicocol vine în contact datorită plierii lanțurilor cu un altul, cel din B 6, la încrucișarea regiunilor B și E. Alanina care l-a înlocuit are un rest lateral scurt, ceea ce nu deranjează contactul amintit. Noțiunea de schimb echivalent trebuie interpretată cu grijă, căci doi aminoacizi oarecare se pot potrivi la fel de bine într-o regiune a polipeptidei, în timp ce în alta nu și, evident, cu atît mai puțin la o altă proteină.

Regiuni relativ invariabile sînt cele între F 4—G 12, B 6—CD 7 și E 2—E 8. Ele formează împreună o mare parte din pereții cavității hemului.

Este evident că resturile de aminoacizi invariabile, precum și cele relativ invariabile asigură conformația tridimensională în esență similară tuturor globinelor și proprietatea lor comună de a lega hemul și prin intermediul acestuia (care asigură o cedare masivă în țesuturi și o saturare aproape completă în plămîni) este proprietatea rezultată în esență din combinarea a patru lanțuri de a se combina reversibil cu oxigenul (67). Proprietatea evoluată a hemoglobinelor de a lega și disocia oxigenul, urmărind o curbă cinetică sigmoidă de globină fiecare cu o grupare hem care „cooperează” între ele (41). Acest

luci
rest(46)
Hil
Pau
mic
Lar
de
spre
pro
tipu
mul
culeîntr
gică
care
sește
tami
Hb.norm
capt
rați
ticip
nale
legăt
Asp
efect
timp
duc linstru
propo
6-fosf
cu H
împie
tice,
letală
milar
nu sîr
evolu
conter
D
contur
sivă a

lucru a devenit posibil în filogenie prin mutații care au dus la apariția unor resturi laterale „complementare” necesare asocierii.

După datele lui G. Braunitzer și colab. (7—8), C. Nolan și E. Margoliash (46), secvența încă incomplet precizată pentru mioglobina de cm, după R. L. Hill și colab. (32), indică numai locurile deosebite de lanțul *m* de la balenă. Pauza indică lipsa poziției respective în lanțul mioglobinei umane (*a*) față de mioglobina de la balenă și (*b*) în toate lanțurile indicate față de Hb. de la *Lampetra*. Sn și SP au fost folosite pentru a indica poziții ocupate la suprafață de resturi nepolare și respectiv polare. Similar ● și ○ indică resturi orientate spre interior invariabil nepolare și respectiv polare; *d* și *p* indică histidinele proximale și distale. $\alpha_1 \beta_1$; $\alpha_1 \alpha_1$; $\beta_1 \beta_1$; $\alpha_1 \beta_2$ indică resturi implicate în tipurile respective de contact între subunități. Aminoacizii în contact cu hemul sînt indicați prin *bm* și *hb*. Regiunile Kendrew sînt indicate prin majusculele respective, A, B, C etc.

Înlocuiri ale acestor resturi de contact între subunități, așa cum s-a arătat într-un capitol anterior, duc la hemoglobine anormale cu semnificație patologică. Un exemplu ar fi Arg 92 (FG4), comună tuturor lanțurilor cunoscute, care formează una din legăturile de tip $\alpha_1 \beta_2$ între subunități. Acest rest lipsește în hemoglobina de la *Lampetra* și în mioglobine, iar înlocuirea ei cu glutamină sau cu leucină în hemoglobinele umane Hb. J Capetown și respectiv Hb. Chesapeake duce la alterarea proprietăților normale (cit. 46).

O altă proprietate deosebit de importantă a hemoglobinelor tetramer normale este de a deveni mai acide prin oxigenare, ceea ce dă posibilitatea captării ionilor de H^+ în stare deoxigenată (efect Bohr). Acești ioni sînt eliberați prin formarea acidului carbonic la nivelul țesuturilor, astfel că Hb. participă activ și în transportul CO_2 . Efectul se datorează histidinelor C terminale ale lanțurilor non- α care prin oxigenarea hemoglobinei se eliberează din legăturile saline formate între N imidazolului și un COO^- liber al resturilor Asp FG 1, precum și altor tipuri de legături. Resturile implicate în producerea efectului Bohr sînt păstrate în timpul evoluției la toate globinele tetramer, în timp ce în mioglobine lipsesc. Variantele genetice care afectează aceste resturi duc la modificări cu semnificație patologică (49).

Tot în legătură cu hemoglobinele se poate admite un aspect deosebit de instructiv. Se știe că în regiunile în care malaria este endemică se găsește o proporție mai mare de heterozigoți cu Hb.S. și din cei cu deficiență a glucozo-6-fosfatdehidrogenazei. S-au putut dovedi experimental că în globulele roșii cu Hb. S. sau cu variante deficitare a G6PD, dezvoltarea plasmodiului este împiedicată (39). Se poate vedea astfel cum prin existența unor variante genetice, chiar dacă prin ele însăși cu semnificație patologică (homozigotia S este letală) se asigură supraviețuirea speciei în condiții deosebite ale mediului. Similar cu remarca, astăzi clasică, a lui L. Pauling, că „moleculele (de proteine) nu sînt bolnave prin ele însăși” tot așa nu se poate vorbi despre o „proteină evoluată prin ea însăși”, ambele noțiuni necesitînd luarea în considerație a contextului metabolic (67).

Din discuția sumară de mai sus asupra diverselor tipuri de globine s-a conturat deja calea diversificării unei activități de bază prin apariția succesivă a unor gene duplicate.

Este de așteptat însă ca anumite proteine să prezinte o conservare mult mai pronunțată a structurii, dată fiind necesitatea persistenței unei activități esențiale cu caracteristici stricte. O astfel de proteină pare să fie citocromul c.

Se cunosc secvențele de aminoacizi pentru citocromul c de la peste 30 de specii dintre care 23 vertebrate, 4 nevertebrate, 3 fungi și de la o plantă superioară (cit. 46). În toate aceste secvențe, peste o treime din poziții sînt ocupate de resturi invariabile. Toți acești citocromi au în jur de 104 aminoacizi, în afară de cîțiva care prezintă pînă la 8 resturi adiționale la capătul N terminal (numerate de la —1 la —8).

Se constată ca și la alte proteine înlocuiri de aminoacizi, majoritatea necesitînd modificarea unei singure baze din codonii respectivi, deleții și inserții. Cele mai multe din înlocuirile de aminoacizi se fac „conservativ“, adică prin resturi echivalente. Multe din pozițiile invariabile sînt ocupate de glicocol, aminoacid deosebit de ceilalți prin lipsa restului lateral, altele prin prolină, aminoacid care destabilizează helixurile (cit. 40). Evident rămîn invariabile resturile laterale care leagă gruparea prostetică, de asemenea o grupare hem, dar diferit legată de cea din hemoglobine. Este cazul Cis 14 și 17, prin care sînt atașate resturile vinil ale hemului, ale His 18 și Met 80, ambele în relație cu Fe din hem (cit. 46). Se observă la toate speciile o secvență lungă între resturile 70—80 strict invariabilă. Această invariabilitate s-ar explica prin faptul că aici sînt cuprinși aminoacizi care vin în contact cu gruparea prostetică, precum și alții ale căror resturi laterale asigură specificitatea legării citocromului de proteinele mitocondriale. Necesitatea unirii de mai multe proteine este evident o condiție limitantă a variabilității și explică în parte gradul de conservare marcată a secvenței de aminoacizi în timpul evoluției.

Un grad înalt de omologie a fost indicat și pentru lanțul γ al fibrinogenului (51). În schimb, secvențele fibrinopeptidelor A și B diferă mult de la o specie la alta. Astfel, comparînd secvențele acestor proteine de la om cu cele de la bovine și porc, se constată o omologie de 75% pentru lanțul γ și de numai 29% pentru fibrinopeptidele A și B. Deosebirile în gradul de conservare indică deosebiri corespunzătoare în importanța funcțională (cit. 51).

Pentru gliceraldehid-3-fosfatdehidrogenază, o enzimă-cheie în sistemul enzimatic al glucozei (întîlnit pretutindeni în lumea vie), conservatorismul pare să fie și mai marcat. Enzima este formată de asamblarea a patru subunități identice, fiecare cu g.m. în jur de 36 000 și avînd în jur de 330 de aminoacizi. Compararea secvențelor de aminoacizi ale subunităților provenite din enzima de la mamifere cu cele de la o specie foarte îndepărtată filogenetic — homarul — indică o identitate de 72% (30). Se pot deosebi și în acest caz, desigur tipurile de înlocuiri amintite, deleții și inserții, regiuni cu invariabilitate mai pronunțată decît în restul secvenței (în special în jurul resturilor catalitice sau importante în structura tridimensională), caracterul probabil „echivalent“ al multor schimbări din secvență etc. (30).

Cel mai înalt grad de omologie și conservatorism întîlnit pînă acum pentru secvențele de aminoacizi îl constituie însă o clasă de histone. Secvența acestor histone izolate de la specii deosebit de îndepărtate (mază și bovine) diferă doar prin 2 poziții din 102 aminoacizi (cit. 3). Este o indicație puternică pentru un rol biologic strict.

Pornind de la analogii în mecanismul de acțiune, cum ar fi utilizarea coenzimelor NAD și NADP, reacții încrucișate cu diverse substraturi și similități structurale generale (cum ar fi g.m. a subunităților) unii autori consideră dehidrogenazele NAD și NADP—dependente ca provenind dintr-o genă precursoră comună în evoluție (23, 26). S-au adus și dovezi mai directe, cum ar fi compararea unor secvențe scurte izolate din aceste enzime. Mai ușor de urmărit această omologie este evidentă în cazul subunităților lactatdehidrogenazei, respectiv A (caracteristică mușchiului striat), B (caracteristică miocardului) și C (izolată de curînd din izoenzima LDH-X caracteristică spermatozoizilor). Prezența celor trei gene care codifică subunități parțial diferite de lactatdehidrogenază poate fi ușor interpretată pe baza modelului de duplicări și translocări succesive. De altfel, gena subunității de tip C se găsește foarte aproape de cea pentru B (indicînd o duplicare recentă), și ambele departe de A (67).

Dacă diversificarea dehidrogenazelor plecînd de la o singură genă primară pare mai puțin clară pentru moment, un alt grup de enzime, cunoscut sub numele de „serinproteaze”, furnizează un bun exemplu în acest sens (28, 31, 45, 59). Între acestea se găsesc 3 enzime secretate de pancreas sub formă inactivă: chimotripsinogenele A și B și tripsinogenul. Secvențele de aminoacizi ale acestor 3 proteine prezintă numeroase asemănări de structură. Asemănările sînt mai numeroase între cele 2 chimotripsinogene, iar tripsinogenul este mai apropiat de chimotripsinogenul B (59). Se presupune din acest motiv că inițial a existat o genă unică din care s-au desprins timpuriu două pentru tripsinogen și chimotripsinogenul B și abia mai tîrziu cea din urmă s-a duplicat pentru a da și cea a chimotripsinogenului A (45). În jurul resturilor catalitice sînt păstrate secvențe întinse identice; astfel după His 49 din chimotripsinogene, care corespunde unei His în poziția 29 a tripsinogenului, urmează în toate cazurile aceeași 8 aminoacizi. Similar găsim secvențe identice în jurul His 57 din chimotripsinogene.

Stabilirea recentă a configurației tridimensionale a chimotripsinogenului A a dat posibilitatea încercării gradului în care se potrivesc în acest model secvențele de aminoacizi ale proteinelor înrudite. Chimotripsinogenul B se potrivește aproape perfect cu tripsinogenul, dar cu cîteva mici ajustări. Este vorba în special de prezența a două legături disulfidice în regiuni în care chimotripsinogenele nu prezintă asemenea punți, dar în care structura lor tridimensională le permite (cit. 59), așa cum rezultă din figura IV, 7.

Omologii de secvență cu cele 3 proteine de mai sus prezintă și alte enzime proteolitice, cum sînt elastaza, trombina, plasmina și kalikreina (28) (cit. 45). Se poate presupune că toate acestea au o origine comună. Este remarcabil numărul mare de funcții fiziologice diferite îndeplinite de enzime cu o origine comună. Tot în grupa serinproteazelor intră și anumite proteaze bacteriene, subtilizinele. Compararea secvențelor de aminoacizi a subtilizinelor cu cele ale serinproteazelor de la mamifere a indicat o evoluție convergentă, adică pornind de la gene ancestroare diferite.

Exemple de evoluție convergentă și divergentă ne sînt oferite însă mult mai pregnant de cazul unei alte proteine, lizozimul din albuș de ou (50). Com-

parativ cu lizozimul produs de bacteriofagi în celulele-gazdă (47), cel din albușul de ou este complet diferit, ceea ce indică indiscutabil o evoluție convergentă spre aceeași funcție a 2 proteine codificate de la început de 2 gene. În schimb, comparând secvența lizozimului din albușul de ou cu cea a α -lactalbuminei, omologia depășește 40%. Mai mult chiar, secvența α -lactalbuminei poate fi ușor acomodată în modelul tridimensional al lizozimului (omologie

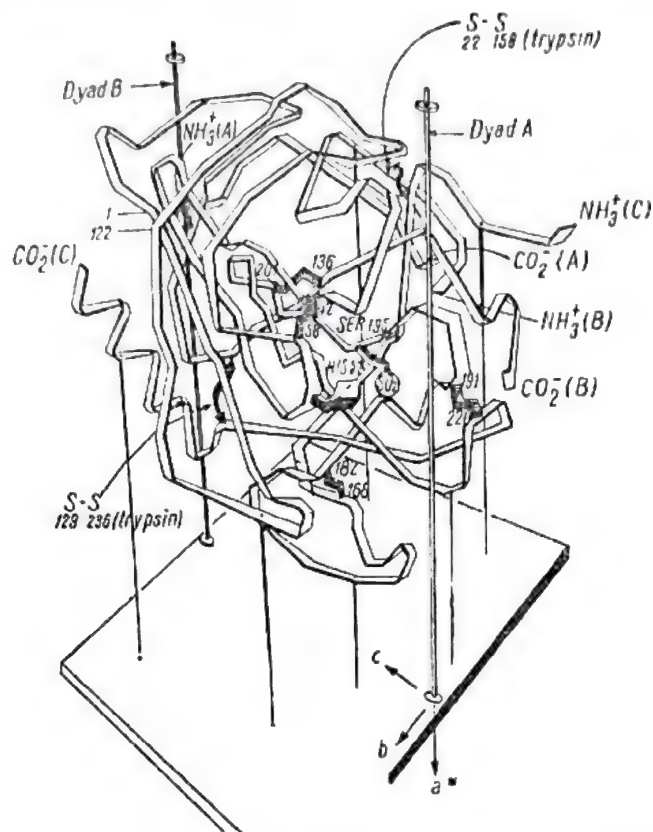


Fig. IV. 7. Structura tridimensională a chimotripsinogenului A cu indicații asupra posibilității de plasare a legăturilor —S—S— în cazul tripsinogenului [după J. Kraut și colab. (cit. 50); D. C. Phillips (50)].

tridimensională), stabilit prin studii cu raze Röntgen (50). α -lactalbumina este una dintre subunitățile lactozosintetazei (11). Similar lizozimului, această enzimă acționează pe legături α -1,4-glucopiranozil, dar cu efecte opuse. Se crede că mutațiile care au dus la divergența celor două proteine au afectat inclusiv centrul activ al enzimei ancestrale (cit. 45).

Exemplele de mai sus pot da o imagine generală asupra soartei genelor duplicate, respectiv diversificarea proteinelor cu apariția unor funcții noi, pe lângă conservarea mai mult sau mai puțin a structurii de bază. Cu toate acestea, extrapolarea unor asemenea date este practic nesemnificativă pentru a justifica gradul mare de secvențe repetitive în ADN-ul organismelor superioare. Acesta ar putea da însă explicația prezenței unor clase de proteine cu un număr foarte mare de individualități, puțin diferite una de alta ca secvență de aminoacizi. O astfel de categorie o constituie imunoglobulinele.

V. LANȚURI POLIPEPTIDICE OMOLOGE EXISTENTE ÎNTR-UN NUMĂR FOARTE MARE ÎN ACELAȘI ORGANISM

Cea mai sigură cale de explicare a diversității discrete și probabil enorme a imunoglobulinelor pare s-o constituie mecanismele evolutive descrise anterior de duplicări succesive urmate de diversificare (33, 39). Eterogenitatea acestor proteine poate fi astăzi explicată în termeni de structură.

În esență, orice moleculă de imunoglobulină este formată din unități structurale asemenea, alcătuite fiecare din două lanțuri ușoare de același fel (g. m. $\sim 20\,000$), unite între ele prin legături disulfidice de o pereche de lanțuri grele (g. m. $\sim 50\,000$), de asemenea identice între ele (fig. IV, 8). Lanțurile grele sînt legate unul de altul prin punți -S-S-. Clasele diferite de imunoglobuline se datorează existenței, de exemplu la om, a 2 (foarte probabil 3) tipuri de lanțuri ușoare și a 10 tipuri de lanțuri grele. Oricare din tipurile de lanțuri ușoare se pot asocia cîte două cu indiferent care tip de pereche de lanțuri grele (tabelul IV, 5).

TABELUL IV, 5

Clasele imunoglobulinelor umane

(după D. Cioli, C. Baglioni — The Structure of Human Immunoglobulins, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1968, 50, 62.)

Lanț greu	Lanț ușor	Formula moleculară	Clasa
γ_a	k, λ	$(\gamma_a k)_2 ; (\gamma_a \lambda)_2$	IgGa
γ_b	k, λ	$(\gamma_b k)_2 ; (\gamma_b \lambda)_2$	IgGb
γ_c	k, λ	$(\gamma_c k)_2 ; (\gamma_c \lambda)_2$	IgGc
γ_d	k, λ	$(\gamma_d k)_2 ; (\gamma_d \lambda)_2$	IgGd
α_a	k, λ	$(\alpha_a k)_2 ; (\alpha_a \lambda)_2$	IgAa
α_b	k, λ	$(\alpha_b k)_2 ; (\alpha_b \lambda)_2$	IgAb
μ	k, λ	$[(\mu k)_2]_5 ; [(\mu \lambda)_2]_5$	IgM
δ	k, λ	$(\delta k)_2 ; (\delta \lambda)_2$	IgD
ϵ	k, λ	$(\epsilon k)_2 ; (\epsilon \lambda)_2$	IgE

Lanțurile ușoare se caracterizează printr-o secvență de 213—220 de aminoacizi. Fiecare lanț ușor prezintă o porțiune N terminală (primii 109—110 aminoacizi), variabilă (V), în funcție de antigenul împotriva căruia este îndreptat respectivul anticorp și o a doua jumătate C terminală de dimensiuni sensibil egale, constantă (C) pentru tipul de lanț ușor dat (k sau λ). În porțiunea C se întîlnesc înlocuiri de aminoacizi în anumite poziții, care dau diverse variante genetice (alele) pentru tipul de lanț ușor respectiv. Astfel, variantele Inv ale lanțurilor k se deosebesc prin aminoacidul din poziția 191 (Val în Inv b⁺ și Ile în Inv a⁺). În lanțurile aproape de această poziție, la restul 190 se găsesc așa-numitele variante Oz (cu Arg sau cu Liz). Cum aceste variante se găsesc mereu împreună la același individ și nu segregă la descendenți (nu sînt alele) indică două regiuni de codificare a porțiunii respective din lanțurile λ (53). Se cunosc și alte înlocuiri, dar deocamdată nu se poate indica dacă este vorba despre variante genetice sau nu. Compararea secvențelor C ale lanțurilor k cu cele din λ a indicat o omologie mult mai mare decît se poate aștepta prin pură întîmplare, ceea ce a dus la presupunerea unei origini filogenetice comune pentru porțiunile constante ale lanțurilor k și λ (39).



Pentru lanțurile grele există mai puține informații. Cu toate acestea pare sigur că și în cazul lor se poate deosebi o jumătate N terminală variabilă (V) și o jumătate constantă (C), spre capătul C terminal (33, 46, 53). Lungimea lor este de aproximativ 440 de aminoacizi, dublă față de cea a lanțurilor ușoare. Comparativ cu acestea, lanțurile grele au câte 4 bucle de câte 60 de aminoacizi, închise prin legături -S-S-, 2 bucle în regiunea V și alte 2 bucle

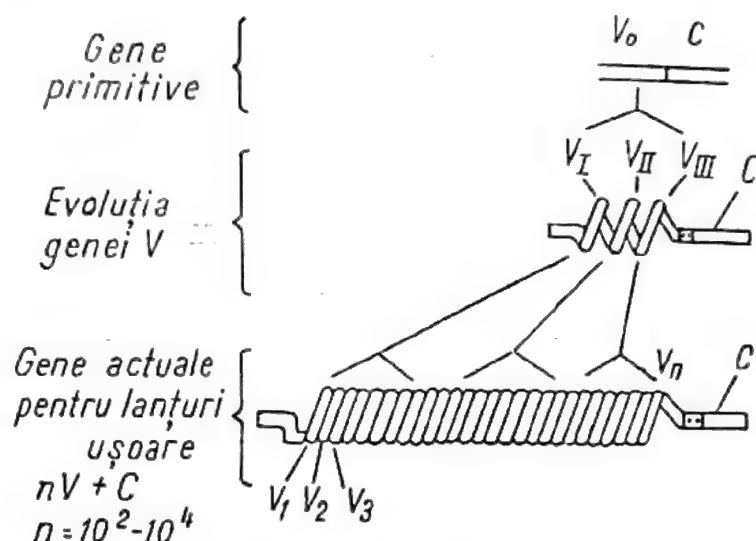


Fig. IV, 9. Schema evoluției genelor pentru lanțurile ușoare. Se presupun gene separate pentru V și C (vezi textul). Duplicările succesive ale genei V au dat la început precursorii grupurilor de V și apoi pe rând toate celelalte gene actuale. Prin diferențierea celulelor imunoformatoare din toate genele V numai una singură rămâne final atașată de C, restul fiind excizate [după H. Hilschmann (33)].

în regiunea C. O serie de alte omologii de structură au dus la ipoteza apariției lanțurilor grele prin duplicare, prin sudare cap la cap, a unei gene ancestrale a lanțurilor ușoare (cit. 6, 33) (fig. IV, 9). Similar cu situația de mai sus s-au găsit mai multe tipuri de lanțuri grele (în jur de 10) (tabelul IV, 5), caracterizate prin secvențe unice în porțiunea C. Asemănarea secvențelor în porțiunile constante ale tipurilor de lanțuri grele este de la caz la caz, mai mare (între γ_a , γ_b , γ_c și γ_d) sau mai mică (între γ_a și μ), dar este totdeauna prezentă, ceea ce conform deducțiilor curente indică o origine comună. Se crede că gena primitivă a lanțurilor grele a început să se duplicate, dând secvențe repetative după apariția peștilor cartilaginoși, la aceștia negăsindu-se decât un singur tip de lanț (33, 39). Pentru diversele lanțuri grele au fost de asemenea identificate diverse variante genetice cunoscute la om sub termenul de factori Gm (în jur de 20). O parte din pozițiile implicate în determinarea variantelor Gm se găsesc pe regiunea C, restul pe regiunea V, ceea ce este deosebit de situația prezentată la lanțurile ușoare (unde variația „alotipică” este dată numai de C). Și mai deosebit de ceea ce se știe pentru lanțurile ușoare este că același caracter Gm din porțiunea V poate fi găsit pe lanțuri grele din clase diferite (deci asociat cu alt C). Aceasta ar indica că setul de porțiuni

variabile (10^2 — 10^4) poate fi folosit de oricare din porțiunile C caracteristice tipurilor de lanț greu (γ , α , μ etc.).

O proteină înrudită cu imunoglobulinele este după toate aparențele haptoglobina (6). Se știe că rolul acestei proteine este de a transporta hemoglobina extraeritocitară. Combinarea haptoglobinei cu hemoglobina este deosebit de specifică, asemănându-se în multe privințe cu reacția antigen-anticorp. Astfel, ea

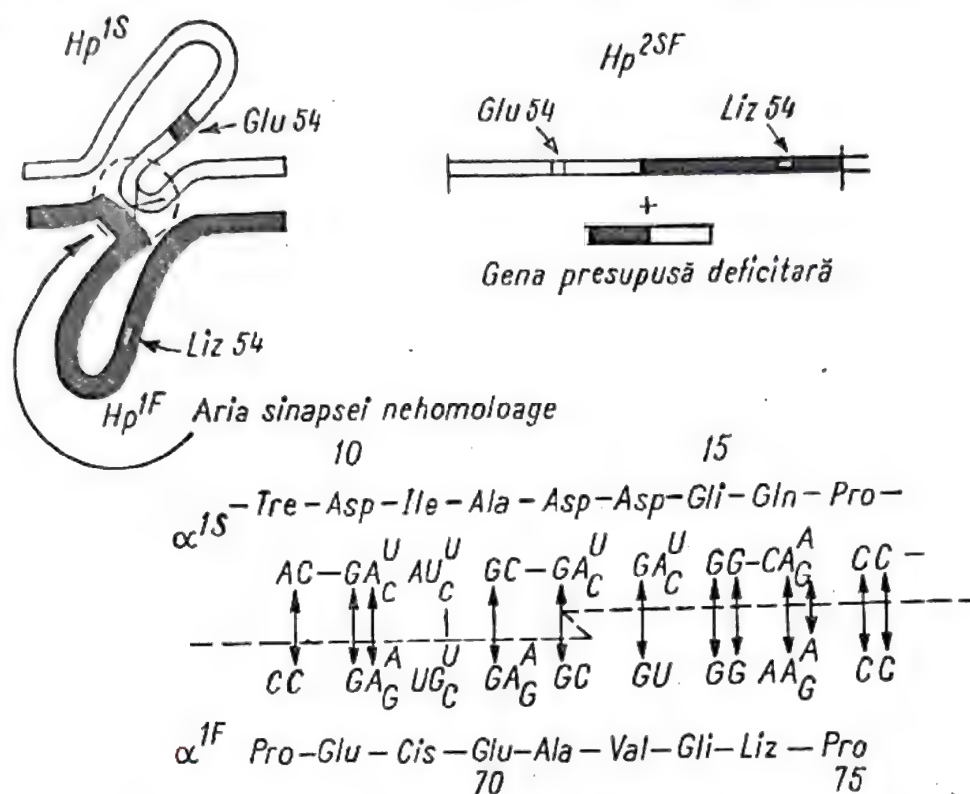


Fig. IV, 10. Crossing over aberrant care explică apariția genelor α^2 de dimensiuni duble din două α originare. Se indică porțiunea care conține poziția 54 pentru variantele slow și fast (S și F), codonii corespunzători regiunilor implicate în crossing-over și modul de împerechere aberrantă a bazelor [după J. A. Black și G. H. Dixon (6)].

se poate combina numai cu forma oxigenată a Hb., nu și cu cea deoxigenată și de asemenea nu reacționează cu mioglobina. S-a evidențiat faptul că o moleculă de haptoglobină are două locuri de legare a Hb. similar cu cele două locuri de legare a antigenului pe anticorp (6). Se știe din capitolele anterioare că moleculele de haptoglobină Hp 1—1 sînt formate din 2 subunități mici α legate de una mai mare β . Secvența subunității α conține 83 de aminoacizi, iar variantele care duc la Hp 1—1^S și Hp 1—1^F sînt date de înlocuirea în poziția 54 a unui acid glutamic cu o lizină. Compararea secvenței de aminoacizi a subunității α a haptoglobinei cu a celor din lanțurile ușoare de imunoglobuline a dus la remarcarea unei omologii deosebite. Se crede că gena haptoglobinei s-a desprins prin duplicare din gena ancestrală a lanțurilor ușoare înainte ca aceasta să-și dubleze dimensiunile prin sudare cap la cap. Se știe că subunitățile α_2 prezente în haptoglobinele de tip Hp-2 au dimensiuni duble față de

obișnuit. Determinarea secvenței de aminoacizi în subunitățile α_2 a precizat locul sudării a 2 gene obișnuite. α_2 are 142 de aminoacizi, dintre care primii 70 sînt cei găsiți în mod obișnuit, următorii pînă la capătul C terminal fiind cei găsiți în α , începînd cu poziția 12.

Astfel, secvența găsită în α între 12 și 70 există de 2 ori în α_2 (respectiv 12—70 și 71—129).

Explicația sudării genelor rezultă din figura IV, 10, unde se indică existența unor codoni asemănători între două regiuni diferite ale genei, ceea ce dă posibilitatea unui *crossing over* aberant. Evident, ar trebui să existe la anumite persoane și gena defectivă mai scurtă, a cărei produs nu a putut fi încă identificat în populația umană. Apariția genei α_2 este deosebit de recentă, deoarece maimuțele superioare nu o au. Mai mult chiar, această genă a apărut după mutațiile care dau variantele F și S. De fapt au putut fi caracterizate polipeptide α_2 cu Glu în poziția 54 și Liz în poziția 113 (corespunzînd lui 54 original, deci o α^{2SF} . Similar au fost găsite și α^{2FS} , adică cu Liz 54 și Glu 113. Apariția genei α_2 aduce o serie de avantaje funcționale, care pot fi considerate ca evolutive. Hp-2 sînt mai eficace în captarea hemoglobinei ca și în modificarea proprietăților acesteia. Este, cu alte cuvinte, o genă în plin proces de evoluție (6) (fig. IV, 10).

Rezumînd am putea spune că foarte probabil, toate lanțurile cunoscute astăzi pentru porțiunile V și C ale lanțurilor ușoare și grele, ca și pentru subunitățile α ale haptoglobinei au o origine filogenetic comună, ele reprezentînd un model de duplicare excesivă a unor regiuni din ADN. Procesul de diversificare continuă și în prezent, ceea ce se poate vedea din rata relativ mare de mutații ale acestor proteine.

TABELUL IV, 6

Rata de mutații pentru diverse proteine

(după 70)

Proteina	Număr de mutații/ 100 000 000 de ani
Fibrinopeptide	90
STH	60
Imunoglobine	34
Regiunea C a lanțurilor k	40
Regiunea V a lanțurilor k	34
Regiunea C a lanțurilor grele	28
Ribonucleaze	30
Hemoglobine	12
Mioglobine	9
Insuline	4
Citocromii c	3
Gliceraldehid-3-fosfatdehidrogenază	2
Histone (fracțiunea IV)	0,06

Alte proteine care ar putea fi explicate prin prezența unor gene repetitive sînt proteinele „receptor” din membranele celulelor. Prezența acestor proteine, deocamdată în mare parte ipotetice, ar putea explica multe fenomene biologice, cum ar fi excitabilitatea, migrarea specifică și agregarea celulelor în organogeneză, captarea specifică a o serie de macromolecule, recunoașterea

diferiților hormoni polipeptidici de către celulele „țintă“, simțul mirosului etc. (19). Analogia cu anticorpi este evidentă, cu atât mai mult cu cât se presupune că în celulele imunoformatoare, mitoza ar fi declanșată prin unirea specifică a unei proteine de membrană cu antigenul „prelucrat“ într-un fel oarecare (cit. 38).

VI. SECVENȚE REPETITIVE CARE NU CODIFICĂ PROTEINE

Se știe din genetica moleculară că pe lângă proteine în ADN sînt codificate și rARN și ARN de transport (tARN). De asemenea se știe că există gene de reglare care fie codifică proteine represor, fie servesc drept locuri de inițiere a replicării ARN, recunoscute și blocate de represori.

Deși deocamdată există relativ puține date asupra acestor gene, există indicații că procesele de duplicare, mutații prin înlocuiri de baze, deleții și inserții se aplică și în cazul lor. Așa cum s-a amintit există numeroase gene care codifică ARN ribozomiali (la organismele superioare de ordinul a 10^3), ceea ce indică evident un proces de duplicare deosebit de intens. Procesul de duplicare a genelor care codifică rARN se petrece în plus chiar în timpul ontogenezei (12), ca un mecanism fiziologic de „amplificare“ a informației genetice. Compararea secvențelor de baze cunoscute, dar mai ales a raporturilor G+C/A+U la rARN din surse diferite a indicat un grad de omologie foarte marcat între specii înrudite. Se pare deci că rARN au o rată de mutații destul de mică (1) (cit. 38, 63). Asemănător se știe că regiunile de codificare a tARN sînt mult mai întinse decît ar fi necesar pentru o singură reprezentare a fiecărui tip (9). Sînt cunoscute astăzi în jur de 15 secvențe de nucleotide pentru tARN provenind de la bacterii, drojdii și mamifere (cit. 51). Toate aceste secvențe cuprind un număr apropiat de nucleotide (80 ± 5) și pot fi aranjați în modelul „frunză de trifoi“, imaginat de R. W. Hooley (cit. 51). Compararea lor a indicat cel puțin 16 baze care se găsesc în poziții identice (plus cele 3' terminale care nu sînt codificate de ADN) (fig. IV, 11). Împreună cu alte omologii structurale, aceasta a permis emiterea ipotezei după care toate tARN ar avea la origine o singură genă, care, prin duplicări, mutații, inserții și deleții, a dat diversitatea actuală (51) (fig. IV, 11).

Referitor la genele reglatoare a fost emisă o ipoteză deosebit de atrăgătoare. Se poate presupune, după M. R. Pollock (52), că toate genele care aparțin unui operon au apărut prin duplicări succesive din una singură ancestrală (34). Gena reglatoare care codifică represorul ar avea aceeași origine, iar proprietatea acestei proteine de a lega substrate (sau produse) ale enzimelor codificate de genele structurale ar fi dovada unui „centru activ“ cu o structură încă asemănătoare (52).

Situația, așa cum s-a amintit de mai multe ori în cuprinsul capitolelor de biologie moleculară, este mult mai complicată la celulele organismelor superioare. Există însă cu siguranță și în acest caz gene reglatoare, dintre care unele par să intervină prin codificarea unor ARN activatoare care deblochează genele de structură din combinația acestora cu histonele (9). Este probabil că multe din secvențele repetitive evidențiate în ADN codifică tocmai asemenea ARN activatori.



În încheiere am vrea să subliniem faptul că abordarea proceselor filogenetice la nivel molecular dă posibilitatea interpretării integrative a diverselor variante genetice întâlnite în lumea vie, dintre care unele au semnificații patologice (cazul bolilor moleculare la om), a asemănării de structură și a impor-

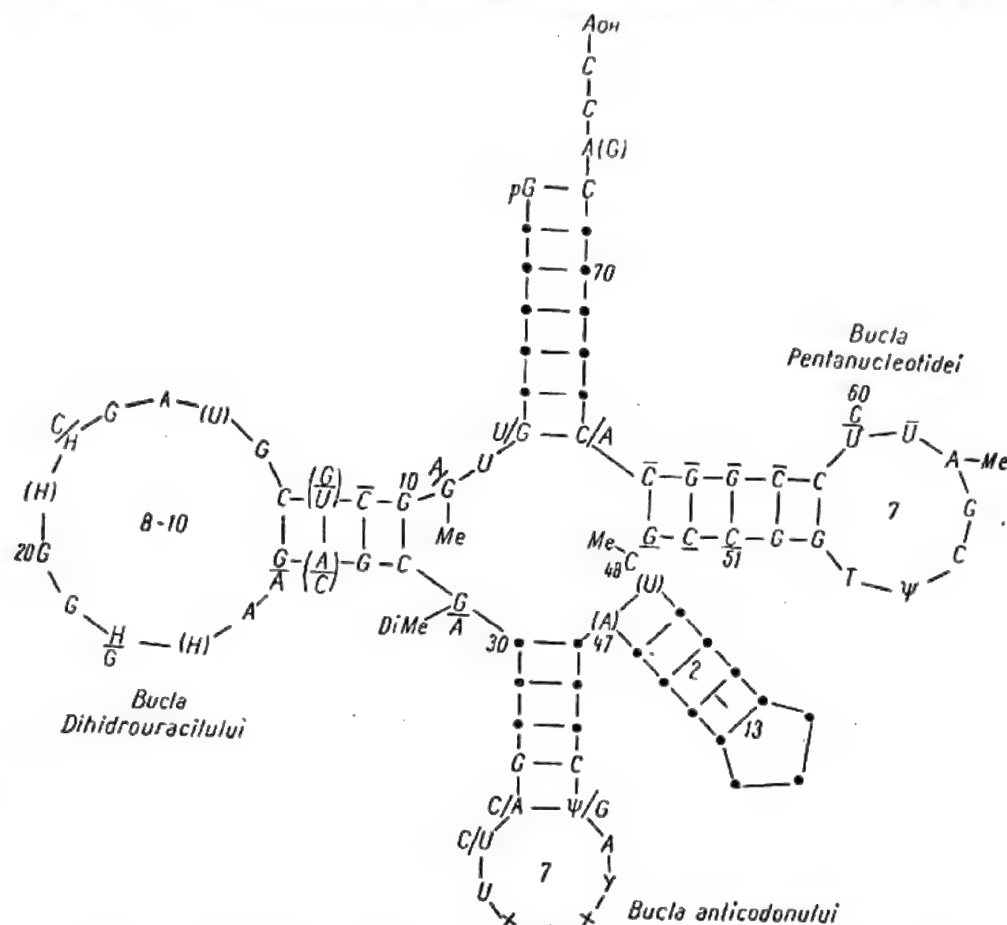


Fig. IV, 11. Schema generalizată a tARN. Pozițiile indicate prin puncte sînt variabile, cele indicate prin litere sînt ocupate de bazele corespunzătoare invariabil sau (pentru literele barate) cel mai adesea de acestea [după G. R. Phillips (51)].

tanței acesteia pentru clase diverse de proteine și indică căi de abordare a cel puțin uneia dintre ultimele frontiere ale biologiei moleculare procesul ontogeniei. Se naște astfel o știință nouă, al cărei scop final ar putea să fie, suprema dorință umană, acela de a dirija evoluția, inclusiv pe cea a speciei proprii.

BIBLIOGRAFIE

1. A m a l d i F. — *Nature*, 1969, 221, 95.
2. A n f i n s e n C. B. — *The Molecular Basis of Evolution*, Ed. J. Wiley si Sons, New Jersey, 1959.
3. B o n n e r J., D a h m u s M. E., F a m b r o u g h D., H u n a g R. C., M a r u s h i g e K., T u a n D. Y. H. — *Science*, 1968, 159, 47.

4. Bradshaw R.A., Kretsinger R.H., Gurd P.R.N. — *J. biol. Chem.*, 1969, 244, 2 159.
5. Baglioni C. — *Molecular Genetics*, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, 1963, New York — Londra, p. 405.
6. Black J.A., Dixon G.H. — *Nature*, 1968, 218, 736.
7. Braun V., Hilse K., Best S.J., Flamm V., Braunitzer G. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49, 935.
8. Braunitzer R.G., Braun V., Hilse K., Hobom G., Rudloff V., Wettstein G. von — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 183.
9. Britten R.J., Davidson E.H. — *Science*, 1969, 165, 349.
10. Britten R.J., Kohne D.E. — *Science*, 1968, 161, 529.
11. Brodbeck V., Denton W.L., Tanahasi N., Ebner K.E. — *J. biol. Chem.*, 1967, 242, 1 391.
12. Brown D.B., Dawid I.B. — *Science*, 1968, 160, 272.
13. Buettner-Janusch J., Hill I.R. — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 167.
14. Chauvet J., Chauvet T.M., Crépy D., Acher R. — 6th Intern. Congr. Biochem., New York, 1964, Abstracts II, 145.
15. Dauteaux M., Boulanger Y. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49, 949.
16. Davidson B.E., Sajgo M., Noller H.F., Harris J.I. — *Nature*, 1967, 216, 1 181.
17. Delancourt J., Lebor A.S., Zuckerkandl E. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49, 577.
18. Drake J.W., Allen E.-F., Forseerg S.A., Preparata R.M., Greening E.D. — *Nature*, 1969, 221, 1 128.
19. Dreyer W.S., Gray W.R. — *Nucleic Acids in Immunology*, edit. Plescia Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 614.
20. Fitch W.M. — *J. Mol. Biol.*, 1966, 16, 9.
21. Fitch W.M. — *J. Mol. Biol.*, 1966, 16, 17.
22. Florkin M. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1963, 45, 613.
23. Fondy T.P., Everse J., Driscoll A.G., Castillo F., Stolzenbach E.F., Kaplan N.O. — *J. biol. Chem.*, 1965, 240, 4 219.
24. Freese E. — *Molecular Genetics*, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York, 1963, p. 207.
25. Freese E., Yoshida A. — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 341.
26. Kaplan N.O. — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 243.
27. Garen A. — *Science*, 1968, 160, 149.
28. Groskopf W.R., Summaria L., Robbins K.C. — *J. biol. Chem.*, 1969, 244, 3 590.
29. Harris I. — *Nature*, 1964, 203, 31.
30. Harris I., Perham N.R. — 6th Intern. Congr. Biochem., New York, 1964, Abstracts IV, 293.
31. Hartley B.S., Brown J.R., Kauffman B.L., Smillie L.B. — *Nature*, 1965, 207, 1 157.
32. Hill R.L., Harris C.M., Naylor J.F., Sams W.M. — *J. biol. Chem.*, 1969, 244, 2 182.
33. Hilschmann N. — *Naturwis*, 1969, 4, 195.
34. Horowitz H.N. — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 15.
35. Ikenaka T., Schmid K. — *Nature*, 1967, 215, 66.
36. Ingram V.M. — *Nature*, 1961, 189, 704.
37. Lord C.D., McConaughy B.L., McCarty B.J. — *Nature*, 1969, 224, 149.
38. Lennox E.S., Cohn M. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 365.
39. Luzzato L., Usanga E.A., Reddy S. — *Science*, 1969, 164, 839.
40. Manta I. — *Biologia moleculară și medicina modernă*, edit. O. Fodor, Ed. medicală, București, 1969, p. 9 și p. 146.

41. Manta I., Bărză O. — *Biologia moleculară și medicina modernă*, edit. O. Fodor, Ed. medicală, București, 1969, p. 40.
42. Morse D. E., Horecker B. L. — *Science*, 1968, 161, 813.
43. Nance W. E., Smithies O. — *Nature*, 1963, 198, 869.
44. Nei M. — *Nature*, 1969, 221, 40.
45. Neufeld H., Walsh K. A., Winter W. P. — *Science*, 1967, 158, 1638.
46. Nolan C., Margoliash E. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1968, 37, 727.
47. Okada Y., Streisinger G., Emrich J., Newton J., Tsugita A., Inouye M. — *Science*, 1968, 162, 807.
48. Ostretang W., Smith E. W. — *Europ. J. Biochem.*, 1969, 10, 371.
49. Perutz M. F. — *Nature*, 1969, 224, 269 și Perutz M. F., Muirhead H., Mazzarella L., Crowther R. A., Greer J., Kilmartin J. V. — *Nature*, 1969, 222, 1240.
50. Phillips D. C. — 7th Intern. Congr. Biochem., Tokyo, 1967, Proc. 63.
51. Phillips G. R. — *Nature*, 1969, 223, 374.
52. Pollock M. R. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49, 633.
53. Putnam F. W. — *Science*, 1963, 163, 633.
54. Rudolf V. — 6th Intern. Congr. Biochem. New York, 1964, Abstracts III, 208.
55. Sager R. — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 591.
56. Sarabhai A. S., Stretton A. O. W., Brenner S., Bolle A. — *Nature*, 1964, 201, 13.
57. Schroeder A. W. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1963, 32, 301.
58. Schroeder W. A., Huisman T. H. J., Shelton J. R., Kleihauer E. F., Dozy A. M., Robberson B. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash)*, 1968, 60, 537.
59. Smillie L. B., Furka A., Nagabhushan N., Stevenson J. K., Parkers C. O. — *Nature*, 1968, 218, 343.
60. Sueoka N. — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, 479.
61. Tsugita A., Inouye M., Terzaghi A. E., Emrich J., Okada Y., Streisinger G. — 7th Intern. Congr. Biochem. Tokyo, 1967, Abstracts I, 19.
62. Urbain J. — *Rev. franç. Étud. clin. Biol.*, 1969, 14, 735.
63. Walker P. M. B. — *Nature*, 1968, 219, 228.
64. Wallace H., Birnstein M. I. — *Biochim. biophys. Acta*, 1966, 114, 296.
65. Whiteley H. R., Whiteley A. M., McCarthy B. I. — 7th Intern. Congr. Biochem. Tokyo, 1967, Abstracts V, 1037.
66. Yanofsky C. — *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.*, 1963, 28, 581.
67. Zinkham W. H., Isensee H., Renwick J. H. — *Science*, 1969, 164, 185.
68. Zuckerkandl E., Pauling L. — *Horizonts in Biochemistry*, edit. M. Kasha, B. Pullman, Academic Press, New York — Londra, 1962, 189.
69. Zuckerkandl E., Pauling L. — *Evolving Genes and Proteins*, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, 97.
70. X X X — *Nature*, 1969, 224, 313.

ANALIZA VARIABILITĂȚII DATORITE GENELOR MAJORE CU AJUTORUL STUDIILOR FAMILIALE

L. Sulică

Factorii responsabili de producerea unei boli la o persoană dată pot fi clasificați, în mare, în două categorii:

- a) Intrinseci, transmiși oului fecundat de la părinți.
- b) Extrinseci, care acționează din momentul concepției până în momentul examinării și care modifică organizarea individului.

Studiul etiologic al bolilor constă în esență din compararea distribuției bolii în grupe care prezintă similitudini de vîrstă, sex, rasă, ocupație, în scopul de a caracteriza colectivități de bolnavi și de sănătoși și de a discerne acei factori care pot avea legătură cu apariția bolii într-o populație dată. Aglomerarea familială a cazurilor de boală permite studierea și evaluarea determinanților moșteniți care au semnificație în etiologia bolii.

Caracterul binar al aparatului genetic la organisme cu reproducere sexuată permite realizarea de modele simple matematice privind atît expectația genetică la urmașii proveniți din părinți comuni, cît și expectația în populația generală. Studiile familiale în cel mai strict sens se referă numai la studii de segregare și „linkage”, dar în practică se încearcă să se obțină relații auxiliare, care permit, în ipoteza unor modele genetice bine definite, să se abordeze probleme variate care nu sînt accesibile în mod direct altor metodologii.

După David, Neel, Schull, Steinberg, Morton etc. se consideră drept criterii sugestive, pentru existența unor factori genetici în bolile sau trăsăturile de origine necunoscută, următoarele: o mai mare frecvență în rîndul rudelor decît în populația generală; o concordanță crescută a perechilor de gemeni monozigoti față de dizigoti; o frecvență crescută a defectelor, mai ales biochimice, la același nivel sau în același sistem funcțional la rude față de populația generală; consanguinitate crescută în cazul unei presupuse trăsături recesive, cît și o vîrstă caracteristică de instalare a bolii. Toate aceste criterii se verifică cu ajutorul studiilor familiale, însă nici unul sau nici o combinație a criteriilor amintite nu poate furniza dovada certă a unei etiologii genetice. Niciodată nu se poate înlătura cu certitudine cauzalitatea datorită mediului. Totuși, metoda genetică este valoroasă, deoarece variația genetică neîntîmplă-

toare este încorporată în structura unui model genetic dat, pe cînd variația datorită mediului se distribuie la întîmplare între membrii familiilor.

Studiile genetice familiale sînt expuse la numeroase servituți metodologice care trebuie cludate, cînd este posibil, sau cel puțin trebuie cunoscute, pentru a se evita concluziile eronate care aproape totdeauna sînt mai dăunătoare decît ignoranța.

Dificultățile și limitările studiilor genetice familiale țin de mai multe fapte, dintre care cele mai importante sînt:

— Imposibilitatea frecventă de a cunoaște constituția genetică, mai ales în legătură cu penetranța redusă a acestei constituții.

— O dificultate derivată din categoria amintită rezultă din împrejurarea că aceeași entitate morbidă se poate moșteni în mai multe feluri. În legătură cu acest punct se impune distincția dintre cazurile sporadice și cele familiale.

— Dimensiunile reduse ale familiilor omenești sînt o cauză caracteristică de dificultate.

Aceste surse de dificultate cel mai adesea se interferează și trecerea lor în revistă nu poate păstra totdeauna o separare netă a problemelor.

S-a arătat că agregarea familială este o condiție esențială pentru afirmarea bazei ereditare, fie ea monogenică sau poligenică. O dificultate incipientă rezultă din greutatea unei selecții nepărtinitoare a familiilor; dacă o familie cu mai multe cazuri de boală are o șansă mai mare de a fi colectată pentru studiu vom constata în mod obligatoriu o agregare familială. Agregarea familială chiar corect obținută nu poate constitui o dovadă directă pentru existența unor factori ereditari, deoarece ea poate fi și rezultatul unor elemente din mediu, cum s-a mai spus, care ca și genele variază de la o familie la alta. Foarte des accentul trebuie pus pe acești factori de mediu și pe obiceiurile ereditare și nu pe determinanța ereditară. Faptul că proporția de copii afectați variază după cum ambii sau nici unul din părinți nu este afectat, nu este o dovadă sigură de transmitere genetică, deoarece factorii de mediu prezenți la unul sau ambii părinți pot avea același rezultat asupra proporției de urmași afectați.

Un pas în plus se realizează prin desemnarea arborilor genealogici, adică în esență prin compararea frecvențelor observate la copiii proveniți din tipuri de părinți diferiți fenotipic în privința unei trăsături date, cu frecvențele așteptate conform variatelor ipoteze genetice. Analiza arborilor genealogici, pe lîngă că se referă la boli monogenice, se poate realiza numai în cazul bolilor genetice rare. Această limitare rezultă din lipsa de concordanță dintre genotip și fenotip. În cazul frecvențelor crescute ale genelor producătoare de boli monogenice nu se poate face distincția între transmiterea recesivă și dominantă pe baza studierii aspectelor fenotipice ale părinților și copiilor. De exemplu, în cazul unei trăsături dominante, știm că pentru gene rare bolnavul va fi în imensa majoritate a cazurilor un heterozigot, ca și unul din părinții săi, iar copiii vor fi jumătate afectați similar. O frecvență genică crescută în cazul unei trăsături recesive poate avea același efect observabil prin realizarea proporției de 1/1 în rîndul copiilor cînd un părinte homozigot bolnav întîlnește cu ușurință un partener purtător. De asemenea, în cazul că ambii părinți sînt afectați, urmașii vor fi toți afectați chiar în cazul transmiterii dominante

prin aceea că este vorba de părinți ambii homozigoți sau unul homozigot și altul heterozigot dominant și aceasta tot datorită frecvenței genice crescute. Astfel se anulează valoarea unui criteriu important de recunoaștere a transmiterii recesive, care constată toți copiii afectați când provin din părinți homozigoți afectați. Rezultă că analiza arborilor genealogici furnizează date utilizabile numai în cazul trăsăturilor fenotipice rare și ale caracterelor biochimice rare, monogenice, care pot constitui o parte a fondului de predispoziție în bolile poligenice, trăsături ce se comportă conform legii „totului sau nimic”, adică variază discontinuu.

O variație continuă, proprie bolilor comune cu fond ereditar poligenic, nu are ca rezultat o segregare netă a fondului genic în arborii genealogici, realizând astfel un amestec variabil al cazurilor, care desfiindează analiza genetică de tipul celor în uz pentru caracterele monogenice. Acest impediment în cazul bolilor comune datorită atât mediului, cât și eredității poligenice poate fi evitat prin metoda sugerată de Penrose, care constă din compararea sibilor de același sex, unul posesor al trăsăturii în studiu și celălalt servind drept control. Această metodă care evită și eroarea datorită stratificării genetice se poate asimila numai într-un sens foarte larg studiilor familiale. Ea este utilă în argumentarea asocierii cauzale a bolilor comune cu marcatori genetici.

Penetranța redusă constituie alt handicap al studiilor genetice. Vorbim de penetranță redusă când nu toate persoanele de o anumită constituție genetică manifestă acel fenotip prin care se recunoaște clasa respectivă, adică atunci când nu toate care posedă o doză unică de genă în cazul dominanței și 2 gene în cazul recesivității prezintă trăsături în discuție. Ea se exprimă în proporții variabile sub totalul de 100% al penetranței complete. Penetranța incompletă nu introduce nici un principiu teoretic nou, ci este vorba doar de alte gene (gene modificatoare sau de factori intra- sau extrauterini), care afectează în aceste cazuri rezultatul vizibil în așa măsură că gena în discuție se exprimă numai pe un anumit fond și nu în alte condiții. Consecințele practice sînt însă foarte importante, deoarece numai o penetranță completă sau aproape completă prezintă o bază solidă pentru realizarea proporțiilor teoretice ale transmiterii simple mendeliene. Invers, când într-o boală evident ereditară, analiza arborilor genealogici sau a fratriilor nu poate decide între transmiterea dominantă sau recesivă, se poate invoca cu mare probabilitate ideea penetranței reduse. Astfel de ambiguități în studiul fratriilor necesită pentru tranșare probe independente, altele decît cele legate de studiul fratriilor. O astfel de probă o constituie prezența unui procent crescut de consanguinitate la părinții celor afectați, pledînd pentru recesivitate și lipsa consanguinității indicînd dominanța. Procentul penetranței poate fi aflat cu ușurință în experimentele pe animale, care pot fi încrucișate selectiv. Totuși și la oameni se poate calcula penetranța, dacă fenotipul este suficient de răspîndit pentru a interesa un număr suficient de perechi de gemeni monoziigoți. Calcularea procentului de perechi discordante de astfel de gemeni dă relații satisfăcătoare privind penetranța. Se știe că gemenii monoziigoți au o constituție genetică identică și manifestările fenotipice imputabile acestora trebuie să fie concordante dacă penetranța este completă fie că este vorba de dominanță, receptivitate sau transmitere ereditară complexă. Dacă dispunem numai de gemeni dizigoți sau

persoane născute izolat, aprecierea penetranței trebuie să se bazeze pe prezumții alternative. Astfel se poate imagina, pe același material faptic, la fel de justificat, o penetranță scăzută pentru o alelă presupusă dominantă sau penetranță crescută pentru un fenotip presupus recesiv. Valorile penetranței rezultate din studiul negemenilor descriu deci mai mult o situație în general și nu au valoare diagnostică în ceea ce privește modul de transmitere.

Alt aspect al penetranței incomplete este dat de bolile care prezintă un registru larg al vârstei de instalare. Coreea Huntington se prezintă ca o boală a cărei penetranță este zero în primii 2—3 ani de viață, iar la vârsta de 70 de ani este încă sub proporția de 100% a penetrației complete. O serie de boli care au vârsta medie de instalare relativ tardivă permit celor stigmatizați să constituie familii numeroase (diabet, glaucom, unele distrofii musculare și mai multe tipuri de psihoze). Studiul datelor privind aceste boli a dat naștere teoriei anticipației conform căreia vârsta medie de instalare a suferinței la copii este mai scăzută decât media vârstei de apariție a aceleiași boli la părinți. Când se compilează datele privind aceste două grupe în vederea stabilirii vârstelor medii de instalare, în comparație cu populația generală, se introduc în mod inevitabil două surse de eroare: a) cei din grupul „părinți” sînt favorizați prin selecție față de cei din populația generală care prezintă instalarea rapidă și mai ales față de cei decedați timpuriu. Din acest motiv, vârsta de instalare a celor ce au reușit să devină părinți va fi mai mare ca a populației neselectate; b) o altă sursă de eroare provine din adăugarea de cazuri secundare după ce a fost identificat probantul. Vârsta medie de instalare la copii este mai scăzută în aceste studii datorită diagnosticului mai timpuriu și indicării de cazuri adiționale cu apariție tardivă în rîndul părinților acestor copii. Aceste surse de eroare sînt inevitabile și explică semnalarea fenomenului anticipației pentru foarte multe boli, însă teoria nu rezistă criticilor. Aprecierea procentului de penetranță în cazul bolilor cu manifestare tardivă nu beneficiază de studiul gemenilor monoziгоți, după cum ușor se înțelege aceștia fiind de vârste identice. Procentul se poate aprecia însă prin studii longitudinale începute la o vîrstă timpurie și continuate riguros, cu toată dificultatea inerentă unei astfel de cercetări. Dacă este vorba de o trăsătură dominantă, care sare o generație, procentul penetranței se poate aprecia din numărul de antecesorii neafecțați în linie directă, care sînt cuprinși între strămoșul afectat și primul bolnav din aceeași linie de descendență.

O altă piedică care complică analiza genetică familială rezultă din faptul că aceeași entitate clinică poate fi moștenită în diferite moduri. În acest sens, separarea cazurilor familiale de cele sporadice prezintă o dificultate deosebită. Cazurile familiale sînt acelea în care cei afectați din fratrie au moștenit gena sau genele pentru trăsătura în discuție de la unul sau de la ambii părinți. Cazurile sporadice se datoresc: mutațiilor noi, modificărilor cromozomiale, unor complexe rare de gene care nu au șanse să se repete în cadrul fratriei, nelegitimității, sau se datoresc cazurilor negenetice. Din punctul de vedere al analizei familiale, toate acestea sînt fenocopii adevărate și este de dorit să fie eliminate din studiu. Se înțelege că o parte din cazurile sporadice au aceeași etiologie ca și cazurile familiale. Frația cazurilor sporadice poate fi apreciată, cînd gena este rară prin diferență între procentul de consanguinitate al

părinților cu un singur copil afectat și cel al părinților cu mai mulți copii afectați. În cazurile familiale, riscul de recurență este bine definit, $1/4$ sau $1/2$, și depinde de modul de transmitere, dar și de penetranță și viabilitate. În cazurile sporadice, riscul de recurență este de obicei foarte mic. Uneori este însă imposibil să se deosebească aceste două alternative, un caz izolat într-o frăție de dimensiuni reduse se poate datori unei boli familiale care, din întâmplare, a afectat un singur copil; dacă erau mai mulți frați ar fi existat mai mulți bolnavi. Pe de altă parte, copilul afectat ar fi putut să reprezinte cazul sporadic și nu ar fi survenit un al doilea, chiar la o dimensiune maximă a frăției.

În afara cazurilor sporadice și familiale, pentru multe boli, limitări tehnice fac imposibilă în prezent distincția între două boli moștenite independent, care produc aceeași alterare observabilă. Dacă una dintre acestea se transmite autozom și alta legat de sex, separarea genetică este ușoară, dar dacă ambele se transmit în același mod, ele nu pot fi analizate genetic.

O sursă importantă de dificultăți în studiul geneticii familiale rezultă din dimensiunea redusă a familiilor omenești. Cunoașterea variațiilor privind proporțiile simple genetice în familiile omenești este absolut necesară pentru verificarea ipotezelor genetice. Este un fapt cunoscut că ne întâlnim destul de rar cu proporțiile ideale. Astfel, familiile cu 2 copii nu se compun totdeauna dintr-un băiat și o fată și nici o monedă aruncată în aer nu cade alternativ pe o față sau alta. Aceste observații obișnuite pot fi trecute însă cu vederea când se analizează legile eredității, fie că acestea se aplică la proporția sexelor, la proporția 3:1 sau la alte proporții dintre două sau mai multe categorii. Deși căutăm certitudini și preferăm proporțiile ideale trebuie să acceptăm uneori deviații foarte mari de la proporția ideală. Din aceste motive se impune un cadru de referințe unitar și inteligibil pentru aceste abateri și o astfel de unificare se poate obține prin cunoașterea probabilităților fiecărei alternative posibile în familiile umane. O trăsătură caracteristică a acestor familii de dimensiunea redusă impune folosirea unei metode adecvate analizei numerelor mici. Fratrii chiar de 30 de persoane sînt din punct de vedere statistic la limita numerelor mici și bineînțeles sînt cu totul excepționale.

De la început trebuie să subliniem diferența între parametru și întâmplare. Parametrul reprezintă expectația adevărată, cunoscută sau nu, așa cum există ea în natură. Presupunem deci că orice parametru operează constant în cursul colectării datelor și prin aceasta determină expectația generală. Un astfel de parametru poate fi raportul de 1:1, reprezentat de exemplu de formarea de indivizi de sex masculin și feminin la fertilizare, parametru care nu se modifică cu vîrsta sau sezonul. Un alt parametru frecvent întâlnit în genetică este probabilitatea mendeliană de 3:1 care acționează pentru fiecare urmaș al unui anumit tip de părinți. Unii parametri pot fi deduși din modele simple aproape mecanice însă în biologie totdeauna ei vor fi deduși din eșantioane colectate în condiții de uniformitate riguroasă și se impune în aceste cazuri utilizarea unor metode adecvate de evaluare a variației care operează în eșantioanele reduse. Sînt numeroase și convingătoare diferențele biologice care se segregă ca și cum ar fi influențate de parametrul 1:1, ele asociindu-se strîns proce-

sului segregării cromozomiale. Deoarece inventarierea completă nu este posibilă din lipsă de timp, din lipsa unei tehnici adecvate sau din cauza însăși a materialului de studiat, sîntem obligați să recurgem la eșantionare și acest fapt ne obligă să gîndim în termeni de distribuție probabilă, adică să luăm în considerație variația naturală. În cazul compoziției eșantioanelor pentru un fenomen controlat de parametrul 1:1, operînd în familiile omenesti de dimensiuni reduse, ne putem ușor imagina întreaga scară de exprimare a proporției ideale. Pentru eșantionul de dimensiunea 1 vor exista doar două categorii, iar în cazul unei probabilități egale, aceste tipuri de eșantioane vor surveni cu frecvențe egale. În cazul eșantioanelor de mărimea 2, ambii copii vor fi un tip, ambii de celălalt sau vor fi eșantioane cuprinzînd ambele feluri de copii. Tipurile de eșantioane, ca și frecvențele lor relative pot fi obținute relativ simplu prin expansiunea binomului $(p+q)^n$. În această formulă, p și q reprezintă probabilitatea parametrică a primei și a acelei de-a doua alternative, totalul lor obligatoriu fiind 1, care este echivalentul numeric al certitudinii; n este puterea la care se ridică binomul și reprezintă numărul de persoane independente din care se compune eșantionul. Se va ține seama că din lipsă de independență, 2 gemeni identici vor conta ca un singur individ la stabilirea dimensiunilor eșantionului. O dată cu creșterea eșantionului, probabilitatea de a obține proporția ideală de 1:1, 2:2, 4:4, etc., scade, deși fiecare din aceste proporții rămîne rezultatul cel mai probabil sau modul curbei de distribuție. Proporții de o mai mare varietate sînt posibile pentru eșantioane mai mari pe măsură ce proporția ideală devine mai puțin frecventă față de distribuția totală. În mod similar, ușurința de a obține distribuțiile extreme 2:0, 4:0, 8:0 etc. și opusele lor scade cu creșterea dimensiunii eșantionului. De exemplu: 2:0 este de așteptat cu o frecvență de $1/4$ în eșantioanele de mărimea 2; 4:0 survine cu o probabilitate de $1/16$ în eșantioanele de mărimea 4; 8:0 numai în $1/256$ a eșantionului de mărimea 8 în condițiile unei expectații egale pentru p și q . Dispersia eșantioanelor în jurul altor parametri utilizează același principiu de calcul. Aprecierea probabilităților rezultate din expansiunea binomului $(p+q)^n$ pentru alte valori ale lui p și q decît $1/2$ și $1/2$ constituie metoda cea mai exactă, în special pentru eșantioane pînă la un maximum de 30 de persoane în cazul probabilității 3:1 și chiar pentru eșantioane de 100 cînd operează parametrul 19:1. Regula generală este că pentru un produs $n.p.q.$ pînă la valoarea 5, probabilitățile rezultate din expansiunea binomului sînt cele mai adecvate. În cazul expectației mendeliene de 3:1, care este redată în binomul $(3/4+1/4)^n$ conform regulii enunțate, probabilitățile sînt redată corect pînă la un eșantion de aproape 30 de persoane ($n.p.q. = 30 \times 3/4 \times 1/4 = 5,6$). Presupunînd că dintr-un anumit tip de părinți este de așteptat un copil dominant cu probabilitatea de $3/4$ și un copil recesiv cu probabilitatea de $1/4$, decurge că frateriile cu un singur copil care să fie dominant vor constitui $3/4$ din totalul frateriilor de dimensiunea 1 din același tip de părinți, iar recesivii vor constitui restul de $1/4$ din fraterii. Nașterea unui al doilea copil indiferent de ordinea apariției, produce 3 tipuri de fraterii. Din expansiunea binomului $(3/4+1/4)^n$ rezultă $9/16$ dintre fraterii cu 2 copii dominanți, $6/16$ cu unul din fiecare și $1/16$ din fraterii cu 2 copii recesivi, corespunzător proporțiilor de 56, 37,5 și 6% pentru expectația generală de 3:1.

În același mod, în cazul frateriilor de 4 va rezulta din părinți adecvați (heterozigoți pentru o genă recesivă) numai în 42% a eșantioanelor proporția ideală de 3:1, în 31% fraterii formate numai din copii dominanți (normali) și numai în 0,4% fraterii de 4 membri toți recesivi. Cunoașterea acestor distribuții ne ajută să știm la ce rezultate ne putem aștepta în plus față de proporția cea mai apropiată de ideal. În plus este necesar să cunoaștem tipurile de fraterii care sînt tot atît de puțin probabile, ca și variațiile datorite hazardului, deoarece apariția lor cu frecvență crescută impune formularea unor ipoteze noi care să stabilească alți parametri mai adecvați rezultatului observat. Astfel este de așteptat numai în 4,7% din frateriile de 4 să constatăm proporția de 3 recesivi la 1 dominant, în ciuda expectației generale de 3 dominanți la 1 recesiv și un astfel de rezultat poate fi interpretat atît ca o deviație rară, dar posibilă, cît și ca rezultatul unor eventuale influențe necunoscute. Pot rezulta astfel descoperiri utile din testarea unor explicații noi pentru evenimentele rare. În mod arbitrar considerăm un eveniment rar sau excepțional cînd survine în mai puțin de 5% a cazurilor doar ca o deviație întîmplătoare de la probabilitățile acceptate. Rezultă două concluzii: a) familiile luate izolat sau chiar serii mici de fraterii pot să prezinte deviații extrem de largi de la parametrii care operează de fapt; b) abaterea eșantioanelor în jurul proporției ideale poate fi apreciată cel mai bine prin metoda expansiunii binomului. Decurge în mod indirect că tot așa cum bolile rare cu parametri preciși cunosc deviații foarte mari ale eșantioanelor și bolile frecvente cu agregare familială datorită mediului sau fondului genetic pot să se conformeze întîmplător, mai ales pe serii mici, oricărui parametru simplu genetic.

În concluzie, studiile familiale se pot aplica cu profit în cazul bolilor rare monogenice sau pentru evaluarea componentelor monogenice ale bolilor cu fond ereditar poligen. În bolile comune, metoda sibilor a lui Penrose verifică asocierea cu marcatorii genetici. De asemenea, studiile genetice ale arborilor familiari pot infirma ipotezele simple care se oferă cu ușurință în cazul unor boli comune poligenice în baza colectării defectuoase și selective a unor familii izolate. Dificultățile care stau în fața realizării studiilor familiale țin de necorespondența dintre fenotip și genotip, se datoresc relației de dominanță, penetranței incomplete, cazurilor sporadice de altă etiologie sau decurg mai frecvent din dimensiunea redusă a familiilor omenești. Numai cunoașterea acestor dificultăți și utilizarea de procedee matematice uneori elaborate permit realizarea unor studii familiale riguroase.

BIBLIOGRAFIE

- Dobzhansky T. — Principles of Genetics, ediția a 5-a, Ed. Mc. Graw Hill, 1958.
 Falconer D. S. — An introduction in quantitative Genetics, Ed. Oliver și Boyd, 1967.
 Fraser Roberts J. A. — An introduction to medical genetics, Oxford University Press, 1959.
 Neel J. V., Shaw M. V., Schull W. J. — Genetics and the epidemiologic of chronic diseases, U. S. Depart. of. Healt, Education and Welfare, 1965.
 Whittinghill M. — Human genetic and its foundation Reinhold Publishing Corporation, 1965.

MECANISME GENETICE ÎN IMUNITATE

T. Mureșian

Progresul rapid al cunoștințelor realizate în ultimele două decenii în domeniul imunologiei face necesară o reconsiderare a noțiunilor admise a fi clasice înainte de anul 1950. În primul rând, elucidarea unor serii de mecanisme în reacțiile de hipersensibilizare (alergie-anafilaxie), numeroasele date obținute pe baza experiențelor din domeniul transplantărilor de țesuturi și organe și a transfuziilor sanguine și mai ales tehnicile tot mai fine și mai eficiente aplicate în studiul mecanismelor imunitare, precum și evoluția genetice, a biologiei în general, impun această reconsiderare.

De la echivalarea vag delimitată a stării de imunitate cu starea refractară față de bolile infecțioase sau pur și simplu de apărare față de agenții vii nocivi exogeni, sfera noțiunii s-a restrâns prin precizare, dar totodată s-a adâncit. Astfel, imunitatea apare ca o anumită categorie de mecanisme bine delimitate în cadrul fenomenelor care contribuie la menținerea integrității și a constanței individuale a organismelor în permanentul schimb cu mediul înconjurător și intern sau așa cum ne-am putea exprima în termeni informaționali „pentru menținerea planului de organizare” (22).

În acest sens, imunitatea face parte din acele mecanisme indispensabile, capabile să intercepteze și eventual să anihileze „zgomotele” (adică mesajele dezorganizatoare ale unor macromolecule informaționale), care pot apărea în releele funcționale ale organismelor (22).

Aceste mecanisme sînt multiple, însă în ceea ce privește fenomenele de apărare se pot încadra în 2 categorii (Gray 15):

- a) rezistența nespecifică;
- b) imunitatea specifică dobîndită.

Factorii care intervin în aceste fenomene sînt și ei fie de natură celulară, fie de natură umorală.

În sensul vechi al noțiunii, sub numele de imunitate erau implicate mai ales fenomenele de apărare la infecții, deci aspectul „filacogen” (28), dar studiul mecanismelor fenomenelor de anafilaxie și alergie, al accidentelor de transfuzie și al rejetului alogrefelor a determinat lărgirea noțiunii, întrucît se bazau pe mecanisme identice, astfel încît Rössle (cit. 28) definește imunitatea la infecție cu termeni adaptați fenomenelor de alergie (de exemplu, ca

anergie). Potrivit concepției lui C. Steffen (28), termenul de alergie nu este fidel fenomenului de hipersensibilizare, întrucât nu implică specificitatea. În baza acestor considerente, imunitatea poate fi definită ca o stare caracterizată printr-o capacitate modificată a organismului de a reacționa, declanșată de introducerea antigenului; această stare implică existența și dezvoltarea imunoglobulinelor și a sistemelor celulare adaptate specific antigenului introdus, determinând fenomene imunofilacogene (28).

Hipersensibilitatea (alergia) în concepția lui Steffen se definește ca o stare caracterizată printr-o capacitate modificată a organismului de a reacționa, declanșată de introducerea antigenului; această stare implică existența și dezvoltarea imunoglobulinelor și a sistemelor celulare adaptate specific antigenului corespunzător, reacția cu antigenul inducând și declanșând fenomene imunopatogene.

Ca fenomene imunofilacogene sînt considerate acele reacții specifice între imunoglobulinele-anticorpi și celulele specializate, pe de o parte, și microorganismele infecțioase sau produsele lor, pe de altă parte, avînd drept efect anihilarea sau diminuarea acțiunii patogene a acestora. În grupa fenomenelor imunopatogene se includ atît fenomenele de hipersensibilizare de tip imediat (boala serului, fenomenul Arthus, reacțiile anafilactice etc.), cît și cele de tip întîrziat (reacția la tuberculină etc.).

Din aceste definiții se remarcă existența oîtorva termeni comuni ca: antigenul, imunoglobulinele și sistemele celulare adaptate specific; deoarece aceste noțiuni reprezintă elementele esențiale ale procesului intim atît al imunității, cît și al hipersensibilizării, ele necesită o descriere sumară.

Antigenul înseamnă orice substanță a cărei caracteristică principală este proprietatea de a provoca, după ce a fost introdusă în organisme animale, reacții imunitare din partea acestora, traduse prin apariția de imunoglobuline adaptate specific, adică de anticorpi, și de a reacționa specific cu ele.

Fără a intra în detalii trebuie să amintim că numai o parte a substanțelor au capacitatea ca o dată introduse în organisme animale să determine prin ele înșile formarea de anticorpi. O altă parte însă, fiind introduse într-un complex de substanțe, devin antigenice și determină formarea de anticorpi; aceste substanțe vor reacționa chiar și atunci cînd sînt puse izolat în contact cu anticorpii, determinînd specificitatea reacției. Atare substanțe au fost numite haptene (jumătăți de antigene), spre deosebire de primele care sînt antigene complete.

Condițiile ca o substanță să fie antigenică sînt: eterogenitatea față de organismul animalului în care a fost introdusă, un anumit grad de complexitate și de mărime moleculară, natura organică și existența unor anumiți componenți activi. Cele mai bune antigene sînt proteinele, excepție făcînd gelatina, prolaminele, protaminele, histonele, hemoglobina etc., care deși antigenice provoacă o slabă formare de anticorpi și numai în prezența unui adjuvant sau după adăugarea unui component activ (substanță aromatică).

Glucidele și lipidele au mai ales caracterul de haptene însă pot fi și bune antigene. Antigenitatea lor depinde mult și de specia animalului la care se injectează. Astfel, polizaharidele din capsula pneumococului sînt antigenice pentru om și șoarece, nu sînt însă pentru iepure, la care se comportă ca haptene.

O serie de antigene pot să reacționeze cu anticorpi obținuți la animale cu antigene de natură străină, de exemplu proteine de la o specie de animal cu proteine similare provenite de la altă specie de animal. În acest caz se vorbește de un antigen heterofil, această calitate fiind însă legată și ea de asemănări pronunțate în structura chimică a celor două antigene.

În anumite cazuri, antigenii pot determina inducerea unei stări de nereactivitate față de antigeni corespunzători la organismele animale cărora li se introduc. Această calitate se definește în funcție de condițiile în care se administrează antigenul (de exemplu, proteine solubile care au fost perfect debarasate prin ultracentrifugări îndelungate de agregatele mari din suspensie sau antigene administrate la animale nou-născute sau iradiate). Aceste antigene se numesc tolerogene, deoarece induc toleranța la animale (28).

De asemenea se pot întâlni situații în care substanțe slab antigenice administrate împreună sau concomitent cu un amestec greu resorbabil pot deveni antigene bune. Amestecul folosit pentru întărirea antigenității îl numim adjuvant. Adjuvanții au constituit un progres important atât în cercetările imunologice, cât și în practica vaccinărilor și a tehnicii preparării serurilor terapeutice.

Folosirea antigenelor sintetice sau artificiale, care se obțin prin legarea unor determinanți de o proteină sau o polipeptidă, a permis realizarea unor date foarte prețioase asupra calității de antigen și a reacțiilor între antigeni și anticorpi (16).

În anumite cazuri, când substanțele proprii ale organismului se combină cu determinanți străini sau se alterează, ele se comportă ca niște antigene străine și provoacă formarea de anticorpi; aceste antigene se numesc autoantigene și în aceste cazuri se pierde calitatea de autorecunoaștere a sistemelor formatoare de anticorpi. Această calitate are o mare importanță în transplantări, deoarece determină rejetul organelor și țesuturilor transplantate provenite de la indivizi din aceeași specie dacă nu există o identitate genetică care să asigure histocompatibilitatea.

Pentru a rezuma, antigenele se pot clasifica astfel:

- antigene bacteriene, virale și micotice;
- toxine și anatoxine (toxoides);
- antigene parazitare;
- antigene heterofile;
- antigene tisulare, antigene de histocompatibilitate și antigene eritrocitare, leucocitare și trombocitare.

Antigenele de histocompatibilitate la rândul lor se pot împărți în:

- xenogene, provenite de la o specie străină a celeia i s-a introdus;
- alogene, provenite de la indivizi de aceeași specie, însă fără relații genetice;
- izogene, provenite de la indivizi cu identitate genetică (gemeni homozigoți, indivizi din aceeași linie consanguină — *inbred*);
- autoantigene, substanțe provenind din organismul propriu al generatorului de anticorpi;
- antigene tumorale;

Caracteristicile imunoglobulinelor

TABELUL VI, 1

Caracteristici	Tipul imunoglobulinei			
Nomenclatura oficială a O.M.S.	Ig G	Ig A	Ig M	Ig D
Clasa globulinelor de mielom	γ G	γ A	γ M	γ D
Sinonime	$\gamma_1, \gamma_2; 75\gamma; \gamma_{55}; 6,65\gamma$	$\beta_2A; \gamma_1A; 75-135\gamma_1$	$\beta_2M; \gamma_1M; 18-195\gamma$	γ/I
Greutatea moleculară	150 000	165 000	900 000	?
Constanta de sedimentare	6,6 S	7 S (9, 11, 13)	18 S	7 S
Formula moleculară	$K_2\gamma_2$ sau $\lambda_2\gamma_2$	$K_2\alpha_2$ sau $\lambda_2\alpha_2$	$(K_2\mu_2)_5$ sau $(\lambda_2\mu_2)_5$	$K_2\delta_2$ sau $\lambda_2\delta_2$
Lanț H gr. mol. tip	55 000 γ	65 000 α	70 000 μ	δ
Lanț L gr. mol. tip	22 500 K sau λ	24 500 K sau λ	22 500 K sau λ	22 500 K sau λ
Antigen Gm(heavy) Antigen In V(light)	+ +	0 +	0 +	0 +
Sinteza mg/kilocorp/zi	28	30	6,6	?
Catabolism %/zi	3	12	14	?
Timp de înjumătățire	23 de zile	6 zile	5 zile	?
Cantitate normală în plasmă (g %)	1,25	0,15 -0,4	0,15	?
Reacții cu factorii reumatici	+	0	0	?
Fixarea complementului	+	0	+	?
Activitate anticorp	+	+	+	?
Neutralizarea toxinelor	+	(+)	0	?

corespunzătoare și anume γ pentru Ig G, α pentru Ig A, μ pentru Ig M, Δ pentru Ig D, ϵ pentru Ig E. Pornind de la studiul serurilor provenite de la mielomatoși s-au putut descrie ulterior variante ale unora dintre tipuri; astfel, de exemplu, la lanțurile γ s-au descris imunologic 4 tipuri normale: γ 2 A sau NE, γ 2 b sau We, γ 2 c sau Vi și γ 2 d sau Ge.

— Cîte 2 lanțuri polipeptidice ușoare notate L (*light*) sau B, cu greutatea moleculară 22 500. Acestea sînt de 2 tipuri notate cu K și λ . Acestea intră în structura tuturor imunoglobulinelor. Ele constituie proteinele ce se elimină în urină la anumite forme de mielomatoze (proteine Bence-Jones).

Lanțurile sînt legate între ele prin punți disulfidice și anume, lanțurile L de lanțurile H și lanțurile H între ele. Papaina provoacă o hidroliză limitată a lanțurilor grele aproape de centru, fragmentînd molecula în 3 părți, plus cîteva oligopeptide. Aceste 3 părți sînt astfel constituite: cîte un lanț L legat de jumătatea aminoterminală a lanțului H, care în acest caz este numit Fd, cu greutatea moleculară a ansamblului de 50 000, denumite Fab' (*antibody fragment*). Fab apare în două exemplare pentru cele două lanțuri L; al doilea exemplar fiind notat Fab'', puntînd fiecare determinanta anticorpului; al treilea fragment reprezentînd cele două jumătăți carboxi-terminale legate prin puntea disulfidică, avînd greutatea moleculară 50 000 și care poartă simbolul Fc, deoarece a putut fi obținut în stare cristalizată. Acest fragment poartă situsul de fixare a complementului, precum și de fixare tisulară a imunoglobulinei. Prin digestie peptică, lanțurile H sînt atacate dinspre terminația carboxilică, oprindu-se înaintea punții disulfidice. Rezultă o moleculă de anticorpi cu lanțurile L și Fd, legate între ele, formînd complexul (Fab) 2 și resturi din Fd terminal (11, 13) (fig. VI, 1 și fig. VI, 2).

Situsul anticorpului unei molecule de imunoglobulină cu activitate de anticorp este reprezentat printr-o dispoziție de structură cuaternară care rezultă din unirea terminațiilor aminice ale celor două cupluri de lanțuri L și H. Deci o moleculă de anticorpi are cîte 2 situsuri combinate identice, existînd însă posibilitatea ca un anticorp să aibă și situsuri diferite (așa-numiții anticorpi *heterologating*).

În afară de determinantele specifice de anticorpi, imunoglobulinele posedă și determinante specifice de antigen, care diferă la indivizii din cadrul aceleiași specii. Astfel, la om, s-au desprins factorii Gm (Grubb și Laurell), care inhibează reacția de aglutinare determinată de serurile unor bolnavi de poliaterită cronică evolutivă față de hematiile O Rh+ sensibilizate de anticorpi anti-D incompleți. Antigenul Gm este localizat în lanțurile H ale Ig G atît în fracțiunea Fd cît și în fracțiunea Fc. Pînă în prezent au fost descriși 21 de factori Gm desemnați ca specialități alotipice (11).

Ropertz și colab. au descris la om un nou tip de antigen, desemnat cu notația In V localizat în varietatea k a lanțurilor L, la care se cunosc pînă în prezent 3 tipuri. Întrucît la lanțurile L s-a determinat secvența aminoacizilor, s-a putut preciza că diferența între cele două tipuri mai frecvent întîlnite (In V 2 și In V 3) constă în prezența leucinei pentru In V 2 și a valinei pentru In V 3.

Aceste caractere antigenice ale imunoglobulinelor se transmit ereditar și geneticienii le folosesc pentru clasificarea indivizilor și studii asupra repartiției lor în cadrul unor populații aparent omogene. Astfel, în timp ce la negrii afri-

cani factorul Gm (și în special Gm 1) se găsește în proporție de 100%, iar Gm 4 lipsește, la albi, Gm 1 și Gm 5 se comportă ca alele, ceea ce nu se întâmplă la asiatici.

În ceea ce privește filogeneza imunoglobulinelor, datele de până acum arată că lipsesc la nevertebrate, sînt foarte slab reprezentate la vertebratele inferioare, poikiloterme, însă sînt abundente în plasmă la păsări și mamifere. La vertebratele inferioare, atunci cînd se găsesc, imunoglobulinele sînt de un singur tip — mai ales Ig M — (ca de exemplu, la cîinele de mare). Este de notat că prin determinări repetate s-a remarcat că și la mamifere și păsări, stimulul antigenic determină celulele sintetizante de anticorpi să producă inițial Ig M și numai ulterior Ig G și Ig A în cantitate mai mare (11).

Studiul genetic al biosintezei imunoglobulinelor este foarte complicat atît datorită marilor variabilități (clase, subgrupe, alotipii, variații idiopatice), cît și numărului mare de aminoacizi, care se pot schimba între ei, ajungîndu-se la o multitudine de anticorpi susceptibili a fi sintetizați (peste 100 000). Informația genetică, datorită căreia se ordonează sinteza, este transmisă de ADN unui mARN, care, la rîndul lui, o transmite unui set de poliribozomi. Acest set impune ordinea în care tARN aduce aminoacizii în secvențe. Poliribozomii care construiesc lanțurile ușoare sînt diferiți de cei care construiesc lanțurile H, așa cum a fost constatat la om și șoarece de către Scharff (cit. 11) pe poliribozomi 270 S și 190 S. Sinteza se face foarte repede și anume, în 35—45 de secunde pentru lanțurile L și 60—75 de secunde pentru lanțurile H. Lanțurile L se alătură apoi lanțurilor H, combinîndu-se pentru a da molecula completă. Sinteza celor două lanțuri este bine echilibrată, deoarece se găsesc în ser foarte puține lanțuri L și fragmente Fc de lanțuri H libere. În anumite boli, ca, de exemplu, în mielom, acest echilibru este compromis, ceea ce face să apară lanțuri L libere în proteinele Bence-Jones.

Deci, în celula formatoare de anticorpi, care pentru majoritatea autorilor este sistemul limfoplasmocitar, există un cistron pentru lanțurile H și unul pentru lanțurile L, cistroni care nu sînt legați între ei. Controlul genetic pentru clase, subgrupe și alotipii este ușor de înțeles. Deocamdată este însă dificil de apreciat dacă pentru fragmentele variabile, cu marele lor număr de aminoacizi, care pot fi schimbați, există sau nu cîte o genă specială. În această privință sînt mai multe păreri. Pentru Dreyer și Bennet (cit. 11), genele se găsesc preformate în celulele germinale; Brenner și Millstein consideră că celulele germinale conțin numai cîte o genă pentru fragmentele variabile, care apoi suferă mutații somatice (11). Edelman, Hilschmann și Smithies nu admit decît 5—10 sau chiar numai 2 gene pentru aceste fragmente.

Sistemul celular adaptat specific mecanismelor imunitare este constituit, pentru majoritatea autorilor, de către sistemul reticuloendotelial și în special linia histiolimfoplasmocitară. Recunoașterea rolului sistemului limfatic în reacțiile imunitare este de dată destul de veche; cu toate acestea încă nu există o unitate perfectă asupra contribuției elementelor care participă la acest sistem, la formarea anticorpilor și în reacțiile de hipersensibilizare.

Părerile celor mai mulți autori converg spre a acorda rolul primordial în formarea anticorpilor plasmocitului, pentru aceasta existînd mai multe argumente, ca: sporirea numărului de plasmocite în organele hemolimfoide după stimularea antigenică, organizarea structurală a plasmocitului caracteristică

pentru activitate intens proteinogenetică (citoplasma intens bazofilă și pironofilă, ergastoplasma bogată, dezvoltată echivalent în reticul endoplasmatic de tip R), corelația între concentrația de imunoglobuline și numărul de plasmocite, numărul evident redus de plasmocite la bolnavii cu agamaglobulinemie, precum și plasmocitoza crescută în hipergamaglobulinemii. Studiile prin imunofluorescență, cele imunochimice cu anticorpi marcați cu feritină la microscopul electronic, precum și cecetările făcute pe o singură celulă sintetizantă de anticorpi susțin la rîndul lor această concepție (1, 11, 23 etc.). După părerea majorității autorilor, plasmocitele provin din limfocitele mari.

Introducerea în organismul animal a unei substanțe antigenice, dacă se face pe cale intravenoasă, determină acumularea ei în splină și măduva osoasă, iar dacă se injectează subcutanat sau intramuscular, antigenul apare în ganglionii limfatici.

Un rol important în această fază revine macrofagelor (10), care înglobează prin fagocitoză sau pinocitoză antigenul și cu ajutorul hidrolazelor din lizozomi îl degradează pînă la componentele active antigenice, care posedă grupările determinante specifice. Macrofagele cedează apoi acest material limfocitelor mari din organul limfoid respectiv, însoțite de mARN (10, 23). Astfel, în limfocit începe să se mărească volumul citoplasmei, apar diviziuni celulare și se produce transformarea plasmocitară întîi apărînd limfoblaștii, plasmoblaștii, apoi plasmociții imaturi sau tineri și, în sfîrșit, plasmocitul matur. Se pare că plasmocitul imatur cu rata de sinteză cea mai mare a ARN are și capacitatea de fabricare a anticorpilor cea mai marcată. La plasmocitul matur, cu o sinteză mai mică de ARN, eliminarea anticorpilor are loc prin mezocrinie (10, 19, 23, 28) (fig. VI, 3).

Rolul ARN de a transmite capacitatea de a elabora anticorpi în celulele limfoide a fost evidențiat mai ales de lucrările lui E. P. Cohen și colab. (7), care au reușit să inducă formarea de anticorpi în splina șoarecelui neimunizat cu ajutorul ARN extras din splina șoarecilor imunizați. Se pare că cel puțin într-o anumită fază, ARN este legat de o anumită cantitate de antigeni, ceea ce a fost demonstrat atît la ARN extras din macrofage, cît și la cel extras din splină.

Problema răspunsului mai amplu la reinjectarea antigenului presupune trei posibilități:

- a) persistența antigenului;
- b) prezența unor unități autoreplicabile;
- c) activarea unui potențial existent.

Faptul că (așa cum o dovedesc experiențele) se menține posibilitatea unui răspuns la antigen după 800 de generații de celule formatoare de anticorpi, face să fie greu de presupus că antigenul ar putea persista în citoplasmă, ci mai degrabă trebuie să se acorde atribuirea acestei „memorii imunologice” unor unități autoreplicabile, care oriunde ar fi ele localizate au un corespondent în ADN ce constituie genomul celular.

Nossal și Mäkele (cit. 28), constatînd că la reinjectarea antigenului 95% din limfocitele mari apar marcate cu timidină tritiată, consideră că acest tip de celulă este purtătoarea memoriei imunologice (*Memory cells*), (fig. VI, 3).

În celulele producătoare de anticorpi în stare de repaus, anticorpii deceleabili sînt în cantitate foarte mică. Aceste celule în timpul diviziunii lor la

rata obișnuită dau naștere fie la celule care prin diferențiere sau moarte se pierd, fie la celule care prin autoreplicare continuă să transmită memoria imunologică. Atunci când aceste celule vin în contact cu antigenul cunoscut, se produce o stimulare a proliferării lor: un număr mare se vor diferenția, iar o parte mai mică va continua să se mențină ca atare pentru a păstra capacitatea de transmitere a memoriei.

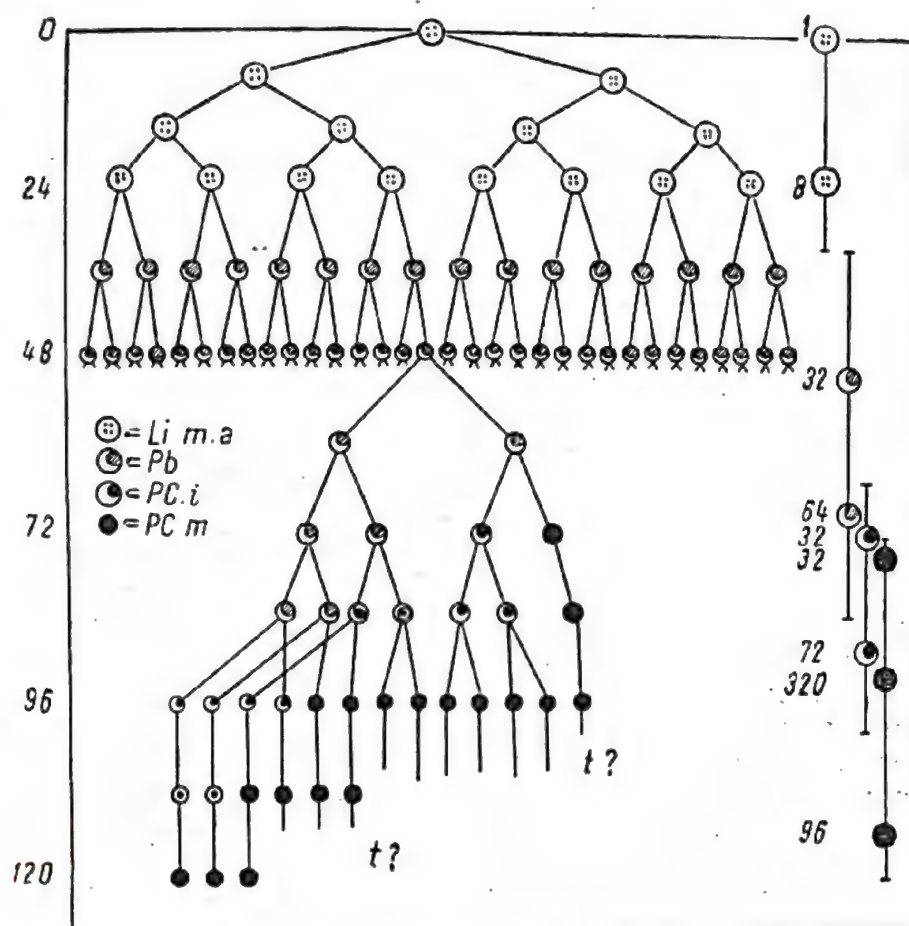


Fig. VI. 3. — Reprezentarea schematică a evoluției unui clon generator de anticorpi (după Mäkelä și Nossal, 1962). Cifrele de pe latura stângă arată orele trecute de la a 2-a injecție de antigen. Cifrele de pe latura dreaptă arată proliferarea celulară a clonului întreg. Bifurcările arată diviziunea mitotică, liniile drepte dezvoltarea celulelor fără diviziune. Li. ma — limfocite mari; Pb — plasmoblast; Pci — plasmocit imatur; Pcm — plasmocit matur [după C. Steffen (28)].

Caracteristica celulelor elaboratoare de anticorpi este ciclul rapid al ADN. Limfocitele mici cu ciclul încetinit nu produc anticorpi, în timp ce unii mutageni (ca fitohemaglutinina) sau antigenii determină stimularea sintezei de anticorpi de către limfocite.

Prin diverse procedee experimentale s-a ajuns la concluzia că în elementele care elaborează anticorpi pot să coexiste procesele de sinteză a ADN cu acelea ale anticorpilor. La fel ca și la alte celule care secretă proteine, în genomul acestora o parte din ADN realizează planul de structură a

celulei, iar altă parte contribuie la sinteza anticorpilor. În baza acestei aserțiuni trebuie acceptată existența restricțiilor fenotipice și genotipice, dovedite în bună măsură de experiențele lui Nossal și Mäkele (cit. 4) pentru restricția fenotipică, întrucât ei susțin că numai 1,8% din celulele generatoare de anticorpi sînt capabile să producă mai mult de un anticorp, cifră la care ajunge prin tehnica imunocitoaderenței cu hematii de la 2 specii diferite (mamifere și păsări) (G. Biozzi și colab.) (2). Pentru restricția genotipică, cercetările lui Simonsen (cit. 4) arată că prin cîteva transferări de celule active la animale receptoare, acestea își păstrează capacitatea de a forma anticorpi pentru antigenul inițial.

În transmiterea informației de la ADN la structurile subcelulare din citoplasmă, interesate în sinteza proteică, s-a arătat anterior rolul mARN.

Pentru inducția formării de anticorpi la celulele specializate s-au emis o serie de ipoteze care se bazează pe două principii teoretice. Acestea sînt:

- teoriile instructive sau informaționale;
- teoriile selective.

1. **Teoriile instructive** atribuie acțiunii directe a antigenului formarea unei structuri spațiale a imunoglobulinelor, care să determine specificitatea anticorpilor. Între acestea se încadrează formulările lui Breinl-Haurowitz, ale lui Alexander și ale lui Muds, care consideră că specificitatea anticorpilor este determinată de secvența aminoacizilor din lanțurile polipeptidice, care au fost dobîndite după contactul cu antigenul pe al cărui determinanți anticorpul își mulează structura complementară variabilă. Mai nou, Haurowitz (cit. 23) a introdus factorul intervenției antigenului legat de mARN, care poate modifica unele secvențe de aminoacizi complementari față de determinanții antigenici, în cursul sintezei proteinei anticorp.

Pauling susține că modificarea are loc la nivelul structurii secundare sau terțiare sub acțiunea antigenului.

Burnet și Fenner modifică teoriile anterioare. Ei presupun că antigenul nu acționează direct asupra globulinelor anticorpi, ci asupra sintetazelor imunoglobulinelor anticorp; mulara pe antigen în felul acesta o face sistemul enzimatic, care astfel marcat continuă să transmită informația globulinelor produse sub acțiunea lui și în absența antigenului. Owen și Schwert (cit. 4) transpun această ipoteză la nivelul ADN-celular.

Grabar pornind de la constatarea că globulinele au în economia proteinelor plasmatice rolul de transportori, pentru o serie de substanțe cu care se combină în acest scop, consideră la un moment dat anticorpii ca un aspect particular al funcției de transport și de fixare a globulinelor.

2. **Teoriile selective** pornesc de la o postulare mai veche a lui Ehrlich, care a emis ipoteza formării anticorpilor pe baza catenelor laterale receptoare pentru antigene, eliberate sub influența acestora. Această ipoteză, deși necorespunzătoare întru totul realității, a fost reactualizată în lumina noilor date de diverși autori. Astfel, Sahli și Jerne concep geneza anticorpilor ca o proprietate a celulelor reticuloendoteliale, antigenul jucînd rolul de stimulator pentru acele celule al căror produși γ -globulinici îi corespund, determinînd prin aceasta o sintetizare mărită a acestor produși.

Burnet introduce în explicația fenomenului de geneză a anticorpilor conceptul „selecției clonale”, constatat la populații de organisme care se

înmulțesc prin sciziparitate (la bacterii), la care o anumită calitate a mediului face să se dezvolte în mod selectiv un grup din populație care este mai pregătit pentru a se adapta acestei calități noi. În acest fel, caracterele noii ramuri ajung să înlocuiască pe cele inițiale, conferind întregii populații caracteristicile proprii conforme mediului în care se produce fenomenul. Aplicând acest concept la populația de celule mezenchimale, celule mobile, supuse permanent modificărilor fiziologice, producătoare ale globulinelor plasmatiche, Burnet presupune că pentru fiecare globulină corespunde un clon, adică un grup de celule cu o anumită marcă genetică. În acest sens, pentru fiecare determinant antigenic ar corespunde un număr de celule care constituie capete de clon sau celule-mamă pentru un clon. Soarta acestora în timpul existenței organismului depinde de modul în care au ocazia sau nu să vină în contact cu antigenul corespunzător și probabil de vârsta populației în momentul contactului. Astfel, contactul cu antigenul în cursul embriogenezei duce la eliminarea funcțională a capului de clon, fapt care ar explica toleranța față de determinanții antigenici ai țesuturilor proprii sau față de antigenele străine introduse în organismul embrionilor sau al animalelor nou-născute. În acest mod se dă o explicație a distingării a ceea ce este propriu (*self*) de impropriu (*non-self*) în imunologie.

Pe baza acestui concept, contactul cu antigenul în cursul vieții individuale va determina proliferarea clonului corespunzător de celule, care imediat după fixarea antigenului complementar se fixează într-o nișă tisulară adecvată (splină, ganglion limfatic etc.), unde proliferază. Burnet atribuie rolul unor asemenea celule cap de clon (imunologic competente sau cum li se mai spune „imunocompetente“), mai ales limfocitului, acesta fiind o celulă circulantă. Acest fenomen nu se petrece însă în orice condiție, ci depinde de o serie de factori, între care concentrația antigenului, starea funcțională a celulelor, existența locurilor propice de nidare sau de caracterul de durată a stimulării. Rezultatele acțiunii acestor condiții pot să se manifeste în afară de proliferare prin producerea de anticorpi, distrugerea celulelor eterogene sau producerea unor substanțe farmacologic active.

În felul acesta, geneza anticorpilor, pe baza concepției selecției clonale, este rezultanta unui proces genetic sau epigenetic. Teoria a suscitat multe discuții, autorul însuși a revizuit o parte din tezele ei, dar totuși până în prezent ea oferă multe aspecte valabile.

În primul rând s-a pus problema că, potrivit acestei teorii, pentru fiecare anticorp trebuie să existe o singură celulă. Nossal (cit. 23), în experiențe efectuate pe celule în cultură unică și cu ajutorul fenomenului de imobilizare și citoaderență, a demonstrat că numai 1,8% din populația celulelor formatoare de anticorpi produc mai mult de un singur anticorp, dar și în acest caz nu mai mult de 2.

Attardi găsește însă un procent mai mare de celule producătoare de câte 2 anticorpi. Însă, chiar și în acest caz, exceptând faptul că în timpul izolării s-ar putea contamina celula cu material de la alte celule formatoare de anticorpi, existența celulelor heterozigote ar putea explica formarea a 2 anticorpi.

De asemenea, se pune problema care ar trebui să fie limita configurațiilor determinantelor antigenice posibile. După Talmage, acestea ar fi de 5 000, iar

după Haurowitz de 50 000, cifre care par plauzibile pentru existența unui număr corespunzător de capi de clonă.

Există însă și contraargumente destul de puternice, între care constatările lui Sterzl și Trnka. Aceștia au stabilit că pentru a induce la iepurii nou-născuți sau la embrionii de găină de 18 zile formarea de anticorpi, numărul minim de celule splenice necesare este de 5 000 000; dar un număr de celule variind între 500 000 și 5 000 000 induce formarea de anticorpi la 50% din animale. Tratarea prealabilă cu antigen *in vitro* scade considerabil cifra celulelor necesare în acest scop. Mărirea stocului de celule administrate, în baza concepției clonale, ar trebui în consecință să scadă intervalul la care anticorpii apar decelabili în sângele receptorilor, fapt care în experiență nu s-a validat, cu timpul suferind o modificare disproporționat de mică față de diferența cantitativă. Acest fapt rezultă și din calculul estimativ al produsului numărului minim de celule necesare producerii unor cantități decelabile de anticorpi.

Teoria selecției clonale a lui Burnet continuă să rămână un domeniu fecund de ipoteze și discuții.

În ceea ce privește reglarea genetică a sintezei de anticorpi, aceasta a beneficiat în totalitate de schema mecanismelor genetice ale sintezei proteinelor elaborate de Jacob și Monod.

Pe baza acestei scheme, Parker și Bearn au presupus un sistem de reglare, pe care îl vom reda în prezentarea oferită de I. Moraru și St. Antohi (21) (fig. VI, 4). Conform schemei lui Parker și Bearn, operonul pentru anticorpi este format dintr-o genă operatoare (O_2), gene structurale (SG^{AB}) și o genă reglatoare (RG_2). Activitatea întregului operon este controlată de un operator

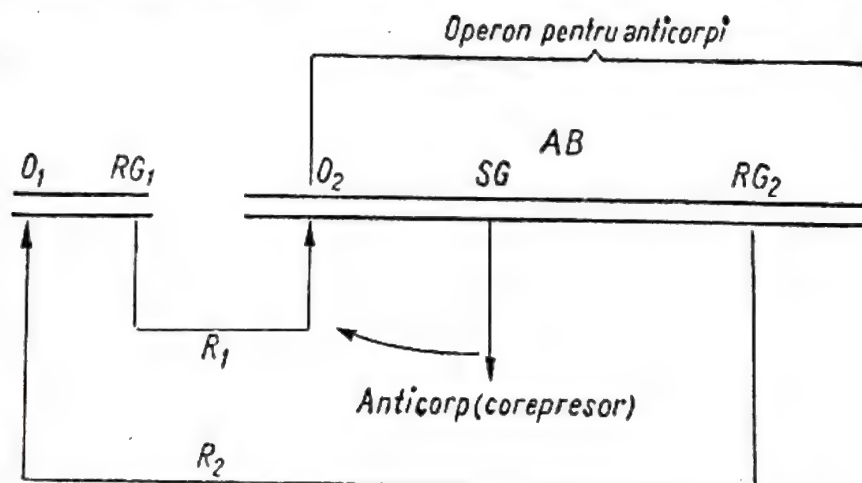


Fig. VI. 4. — Mecanism ipotetic al reglării sintezei de anticorpi [după Parker și Bearn, 1963].
Explicații în text.

[după I. Moraru, St. Antohi (21)].

(O_1) cu o genă reglatoare (RG_1) care determină sinteza unui represor (R_1). Represorul reacționează alosteric cu produsul genelor structurale, anticorpul, care în acest caz este un corepresor. Deci, în repaus, operonul anticorpilor este represat de însăși produsul său. În cazul contactului cu antigenul complementar, anticorpul se fixează pe determinanți, el fiind astfel inactivat. Represorul R_1 , nefiind modificat alosteric, nu reacționează cu operonul, iar gena structurală inițiază sinteza de mARN și se produc anticorpi. În același

timp, gena reglatoare RG_2 din cadrul operonului O_2 sintetizează la rândul ei un represor R_2 care blochează operatorul O_1 și prin aceasta întreg sistemul de reproducere a represorului R_1 . Astfel, producerea de anticorpi de către operonul corespunzător va continua și după ce antigenul va fi dispărut din reacție. Această schemă completată cu afirmația lui Nossal, că sistemul de reglare a producerii de anticorpi este corelat și cu acela de proliferare celulară, a cărui mecanism nu este încă perfect elucidat, ar putea să redea explicația diferențierilor celulare.

La aceste ipoteze, lucrarea lui Burtin și Grabar adaugă o sugestie care integrează mult mai pregnant modul complex în care iau naștere moleculele diferitelor tipuri de imunoglobuline, determinând locii de formare pe cromozomi, de unde este dirijată reproducerea lor. Îndeosebi este important locusul de pe cromozomul X, deoarece explică agammaglobulinemia recesivă legată de sex și variația solidară a Ig G și Ig A, spre deosebire de Ig M între altele.

Se înțelege că aceste ipoteze și scheme nu au ajuns să utilizeze toate aspectele pe care le oferă fenomenele constatate în legătură cu geneza anticorpilor.

În ultimul timp au apărut multe lucrări în legătură cu posibilitățile de transmitere a informației imunologice prin ARN extras din macrofage sau celule splenice.

Astfel E. P. Cohen (7), utilizând metoda lui Jerne, arată că ARN extras din celulele splenice de la animale imunizate față de hematiile de alte specii determină formarea de anticorpi numai la un anumit număr de celule din populație, reacția nefiind competitivă, căci excesul sau îndepărtarea ARN rămas liber nu face nici să crească și nici să scadă numărul populației de celule formatoare de anticorpi la suspensia de celule provenite de la un animal neimunizat. În schimb, dacă celulele provin de la animale care au primit adjuvant fără antigen, însă neimunizate, conversiunea celulelor formatoare de anticorpi se face în număr mult mai mare.

J. A. Mannik (18) izolează din ganglionii limfatici ai iepurilor grefați un ARN capabil să transfere imunitatea de transplantare la celulele limfoide ale iepurilor neimunizați. Ribonucleaza în cantități mici distruge această proprietate a ARN, a cărei fracțiune biologică activă o găsește în jumătatea superioară a gradientelor de densitate.

L. Michelazzi (20) caută ARN purtător al informației imunitare în plasma și serul animalelor recent imunizate, reușind ca prin ele să inducă la animale neimunizate chiar și de specie diferită anticorpi decelabili. În felul acesta se pune problema posibilității de a realiza o protecție activă prin transfer de mARN purtător de informație imunologică.

E. A. Kabanova și I. N. Kokorin (17) au obținut cu mARN purtător de informație imunologică provenit de la macrofage și amescat cu antigenul complementar inducerea transformărilor blastice la celulele imunogen competente provenite de la animale neimunizate, în condiții de cultură celulară.

Asemenea mecanisme de determinare genetică se întâlnesc și la alte elemente care intervin în apărarea la infecții sau în reacții imunitare. Dintre acestea reținem problema interferonului.

După definiția lui B. Fauconier și C. Chany (8), interferonul este o proteină codificată de către genomul celular a cărei sinteză este reprimată în mod normal. La pătrunderea în celulă a unui virus, acesta inactivează represorul;

în felul acesta se produc interferoni, care pătrunzând în alte celule determină dereprimarea sintezei unei alte proteine antivirale, care este codificată de asemenea de către genomul celular. Această proteină acționează asupra formațiunii poliribozomilor virusali, împiedicând expresia oricărei sinteze proteice virusale, fără a implica însă sintezele proteinelor celulei-gazdă.

Interferonii sînt specio-specifici, dar pot să acționeze eventual încrucișat la specii de animale înrudite. Ei sînt produși de oricare celulă somatică și se întîlnesc la toate vertebratele, la nevertebrate și sub o formă similară (*interferon-like*) chiar la bacterii și vegetale (față de bacteriofagi și fitovirusuri). Interferonii acționează față de mai multe virusuri, împiedicînd duplicarea lor. Nu se combină direct cu virionul ca anticorpii. Interferonul este produs de celule atît *in vivo*, cît și în culturi. Celulele în culturi devin rezistente la virus după o incubatie de 4 ore. Interferonii sînt produși și de către celulele embrionare, sînt proteine stabile cu pH 2—9 și cu greutatea moleculară 25 000—160 000. Interferonii reprezintă probabil unul dintre cele mai vechi mecanisme de apărare a organismelor.

Inductorii de interferon sînt multipli, în primul rînd virusurile și mai ales ribovirusurile, care acționează chiar și inactivate, apoi endotoxinele bacteriene sau culturi de bacterii, fitohemaglutinina, toxoplasma sau substanțe ca cicloheximida, statolonul, helenina etc.

Interpretînd aceste date putem constata că mecanismele imunitare sînt controlate genetic. Acest fapt explică diferențele individuale constatate în ceea ce privește răspîndirea bolilor epidemice, ceea ce a permis în decursul timpurilor să se facă anumite considerații mistice. Ele sînt însă justificate prin analiza condițiilor în care se petrece fenomenul epidemiologic și între acestea analiza calităților genetice ocupă un loc tot mai important. Astfel, în observațiile făcute în laborator (16), se constată că într-o populație exogamă de șoareci, dar în rest foarte omogenă, administrarea unui antigen dă un răspuns în anticorpi cu variații pînă la 1 000%. Dacă se încrucișează între ei șoarecii care răspund bine chiar de la a 3-a—4-a generație endogamă (F3—F4) descendenții vor da un răspuns de 4—6 ori superior mediei populației, în timp ce încrucișarea între indivizii cu un răspuns slab de anticorpi dau descendenți foarte slab producători de anticorpi. Webster (cit. 6), lucrînd cu șoareci albi infectați cu *Salmonella typhimurium* a constatat că în urma infecției mureau 37,40%. Prin încrucișări selective a obținut linii de descendenți care dădeau o mortalitate de 85% la aceeași infecție, precum și linii la care mortalitatea nu depășea 15%. Încrucișînd aceste linii între ele constată că rezistența crescută la infecții se transmite ca un caracter dominant. Același lucru s-a putut constata și la infectarea șoarecilor cu virusul febrei galbene (19).

Această expunere lacunară nu face decît să sugereze unele mecanisme genetice care contribuie la apariția unor anumite aspecte ale imunității. Rămîn încă numeroase aspecte care au fost abia atinse sau nici măcar n-au fost abordate fie pentru faptul că nu interesează domeniul strict al imunității, care este după cum s-a văzut prin excelență specifică, fie că încă nu există date destul de clare asupra acestor aspecte.

Scopul expunerii nu a fost însă prezentarea exhaustivă a aspectelor genetice de apărare, ci doar acela de a sugera posibilitățile de determinare genetică a proceselor imunitare.

BIBLIOGRAFIE

1. Ada G. L. — Specialized Cell Function in the Lymphoid and Reticuloendothelial Cell Series, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 18—50.
2. Biozzi G., Stiffel G., Mouton D. — A Study of Antibody-Containing Cells in the Course of Immunization, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 106.
3. Bona C., Vranianici D. — *Microbiologia (Buc.)*, 1967, 12, 487.
4. Bona C., Dumitrescu M. S., Sulică A. — *Imunogenetica, Genetica umană*, red. Șt. M. Milcu și C. Maximilian, Ed. științifică, București, 1966.
5. Burtin P., Buffe D. — L'origine cellulaire des immunoglobulines, *Immunopathologie*, red. P. Grabar și P. Miescher, Ed. Schwabe, Basel, 1966.
6. Carpenter Ph. L. — *Immunology and Serology*, ediția a II-a, Ed. W. B. Saunders, Philadelphia, U.S. A., 1965.
7. Cohen E. P. — IX-th Int. Congress of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 553.
8. Fauconier B., Chany C. — *Bull. Inst. Pasteur*, 1968, 66, 431—460.
9. Fichtelius K. E. — *Schweiz. med. Wschr.*, 1961, 91, 1 181.
10. Fischman M., Adler F. L. — Macrophage R.N.A and Antibody Synthesis, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 177.
11. Gajdos A. — *Presse méd.*, 1969, 97, 137—140 și 329—332.
12. Gheție V., Micușan V. — *Analiza imunochimică*, Ed. Acad. R.S.R., București, 1966.
13. Gorini L. — Ambiguity in the Translation of the Genetic Code into Proteins Induced by Aminoglycoside Antibodies, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 16.
14. Goudemand M., Delmas—Marsalet J. *Elements d'immunohématologie*, Ed. Flammarion, Paris, 1967.
15. Gray D. F. — *Immunologie (traducere)*, Ed. medicală, București, 1966.
16. Halpern B. — *Presse méd.*, 1969, 77, 539—542.
17. Kabanova E. A., Kokorin I. N. — IX-th Int. Congr. of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 554.
18. Mannick J. A. — IX-th Int. Congr. of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 553.
19. Mesrobianu I., Berceanu Șt. — *Imunologie și imunopatologie*, Ed. medicală, București, 1968.
20. Michelazzi L. — IX-th Int. Congr. of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 555.
21. Moraru I., Antohi Șt. — *Introducere în genetica moleculară*, ediția a II-a, Ed. medicală, București, 1966.
22. Moraru I., Sulică A. — *Recunoașterea imunologică și mecanismele prin care se realizează „Progrese recente în disciplinele imunologice”*, Ed. medicală, București, 1969, p. 93—118.
23. Nestorescu N., Ghyka Gr. — *Rolul acizilor nucleici în imunitate*, Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, București, 1969, p. 30.
24. Nossal G. J. U., Szenberg A., Ada G. L., Austin C. M. — *Single Cell Studies on 195 Antibody Production, Molecular and Cellular Aspects of Development*, red. E. Bell, Ed. Harper și Row, New York, 1965, p. 360.
25. Novikoff A. B. — *Lysosomes and Possible roles in the Reticulo Endothelial System, Role du système réticulo-endothélial dans l'immunité antibactérienne et antitumorale*, red. B. Halpern, Ed. CNRS, Paris, 1963, p. 67.
26. Saragea M., Negru T. — *Microbiologia (Buc.)*, 1965, 10, p. 289.
27. Sercarz E., Coons A. H. — *The Exhaustion of Specific Antibody Producing Capacity During a Secondary Response, Mechanism of Immunological Tolerance*, red. M. Hasek, Ed. Publ. House of the Czechoslovak, Acad. of Science, Praga, 1962, p. 73.
28. Steffen C. — *Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunopathologie*, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1968.
29. Sterzl J. — *The Effect of Immunosuppressive Drugs at Various Stages of Differentiation of Immunological Competent Cells, Immunity Cancer and Chemoterapie*, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 73.

CONTROLUL GENETIC AL RELAȚIILOR ANTI- GEN—INFORMAȚIE ANTI- GENICĂ—RĂSPUNS IMUNITAR

Antipa Ivanof

Dacă o substanță, care prezintă caracteristicile ce definesc antigenul, ajunge în contact cu structurile limfoide ale unui animal, declanșează un răspuns imun. Ca o consecință este posibil să se producă imunoglobuline anticorpi circulanți (imunitate umorală) sau o stare de hipersensibilitate de tip tardiv, cu lipsa anticorpilor circulanți (imunitate cu suport celular)¹. În sfârșit, în condiții definite, stimulul antigenic poate duce la instalarea unei stări speciale, caracterizată prin lipsa unui răspuns imun, toleranța imunologică. Același antigen, dacă este administrat într-o formă și pe o cale adecvată, poate duce la apariția oricăruia din aceste răspunsuri. În plus, în urma stimulului antigenic, organismul animal câștigă o nouă calitate, aceea de a prezenta memorie imunologică pentru antigenul respectiv.

În general se face o distincție netă între imunitatea umorală și hipersensibilitatea alergică. Se poate aprecia însă că există pentru aceste procese trăsături importante comune și, în primul rând, faptul că sînt unele mediate de anticorp, cu un control antigenic asemănător, dacă nu identic. Diferențele observate țin mai mult de locul în care se produce reacția antigen-anticorp, de proprietățile chimice și biologice ale antigenului și anticorpului ce intervin în reacție și mai ales de fenomenele secundare locale și generale, care se desfășoară ca o consecință a reacției antigen-anticorp, cu apariția unor substanțe cu acțiune farmacodinamică diversă (36).

Cu toate acestea, se poate, în lumina datelor actuale, face o distincție clară în ceea ce privește originea liniilor de celule care participă în cele două feluri de răspuns imunitar. Celulele antigen sensibile, care intervin în imunitatea cu suport celular, provin probabil din timus, în timp ce liniile care realizează sinteza imunoglobulinelor umorale ar fi dependente de celelalte organe limfoide primare (bursa Fabricius la păsări, sistemul limfatic legat de intestin — plăcile Peyer, apendice etc. — la mamifere) (32).

¹ E poate mai corect acest termen decît cel de imunitate celulară pentru a evita confuzia cu imunitatea celulară a macrofagului în unele procese infecțioase (7).

Desfășurarea proceselor imunitare este fără îndoială influențată de toleranța imunologică, care trebuie privită și ea ca un proces diversificat, cu o dinamică proprie, influența cărui se manifestă începînd de la viteza de eliminare a antigenului din organism, modificarea reacțiilor antigen-anticorp sau a unor procese imunopatologice pînă la abolirea completă a răspunsului imun (6).

Ilustrarea acestor relații se poate găsi în procesul infecțios, în sensul că orice infecție este însoțită de apariția atît a componentei imunitare umorale, cît și a celei celulare. În unele, pe primul plan se situează prima componentă (difterie, tetanos etc.), în altele, cealaltă (tuberculoză, bruceloză etc.), pentru ca conexiunile ce se stabilesc în evoluția infecției între acestea să fie influențate în măsură variabilă de intervenția unor manifestări de toleranță imunitară. Această influențare reciprocă duce de multe ori la conturarea tabloului clinic și etiopatogenic, cu toate consecințele ce decurg de aici (6, 7).

Luînd în considerație toate acestea se poate ajunge la aprecierea că procesele imunologice au o dinamică proprie complexă, se desfășoară în timp, în mai multe trepte, interesînd structuri tisulare și celule specializate, cu o pronunțată diferențiere. De la calitățile antigenului (la recunoașterea lui ca *non self* de către organismul la care a pătruns), la prelucrarea lui pentru a deveni informație antigenică, se ajunge să fie puse în joc mecanismele de formare a imunoglobulinelor anticorpi, concomitent cu alte manifestări paralele ducînd în sfîrșit la conturarea unui răspuns primar și secundar. Rezultă deci că procesele imunologice trebuie să fie supuse unui control genetic complex, de obicei poligenic, cu unele trăsături particulare, care fără îndoială că îmbogățesc nu numai patrimoniul imunologic, dar și pe cel al geneticii în general.

Deși genetica procesului imun este suficient de complexă pentru a putea fi schematizată, se va încerca totuși o ordonare a principalelor cunoștințe de *control genetic* privind:

- antigenul și caracteristicile acestuia;
- prelucrarea antigenului și rolul macrofagului;
- competența și memoria imunologică; imunocitele;
- sinteza imunoglobulinelor și eterogenitatea acestora.

Toate acestea vor avea ca scop o înțelegere mai bună a mecanismelor producerii anomaliilor ereditare întîlnite în răspunsul imun și în general a bolilor prin carențe imunitare.

A. CONTROLUL GENETIC AL PROPRIETĂȚILOR ANTIGENULUI

Antigenul se definește prin două atribute:

a) **Imunogenitate sau antigenitate**, înțelegînd prin aceasta proprietatea de a declanșa atunci cînd este introdus într-un organism un răspuns imun, care ține de structura chimică diferită de structurile proprii ale animalului la care este inoculat (eterogenitate), de o anumită greutate moleculară, de o anumită configurație sterică și de stabilitatea acestei configurații (42). În legătură cu aceasta trebuie să fie făcută o remarcă: lucrîndu-se cu antigene sintetice s-a văzut că pot fi substanțe antigenice pentru cobai, declanșînd atît formarea

de anticorpi, cât și fenomene de hipersensibilitate, substanțe cu greutate moleculară mică, cum este α -dinitrofenil-hepta-L-lizina (Gr. mol. 1 080). Scoaterea unui aminoacid din polipeptid (hexa-L-lizina) duce la pierderea acestei proprietăți (37).

b) **Specificitatea**, care se reflectă în natura, în structura poziției (situs) de combinare a anticorpului, și deci în specificitatea reacției antigen-anticorp, care în general este conferită de haptena sau grupări determinante.

Trebuie făcută distincție între acele arii ale moleculei necesare pentru a fi imunogen și acelea care contribuie la specificitatea antigenului. Din acest punct de vedere se poate face o analogie cu enzimele, care și ele posedă poziții catalitice (centrii activi) și poziții de specificitate pentru substrat.

O mică porțiune din determinantul antigenic are importanță hotărâtoare în definirea specificității sale și a fost etichetată de Heidelberger „grupare imuno-dominantă”. Aceasta poate fi reprezentată de puține resturi de aminoacizi sau de oligozaharide. Este suficientă schimbarea unui monozaharid sau chiar modificarea legăturii glicozidice ($\alpha-\beta$) din oligozaharid, pentru a modifica specificitatea grupării imunodominante (23).

Antigenul este format deci dintr-o haptena de specificitate și o componentă pe care se situează această haptena — purtătorul de haptena (*carrier*). Disocierea răspunsului formator de anticorpi de cel de hipersensibilitate, primul ținând de haptena, iar al doilea atât de purtător, cât și de haptena, ca și alte experiențe dovedesc o participare directă și a purtătorului în stimulul antigenic (24, 37). După N. K. Jerne (19), o moleculă poate fi imunogenă numai dacă prezintă cel puțin doi determinanți antigenici, adecvați situații spațiale: unul pe purtător, necesar pentru atașarea prin complementaritate pe receptorul de pe membrana unui macrofag, și al doilea — haptena — pentru fixarea pe receptorul de pe celula limfoidă.

Posibilitatea ca răspunsul imun al unui organism animal față de un antigen să fie supus unui control genetic vizînd antigenul a fost presupusă cu mai mulți ani înainte. Se cunoaște astfel din lucrările lui Fjord-Scheibel (1943) și Carlifanti (1948), citați de B. B. Levine (22), că există relații statistice semnificative între capacitatea părinților și cea a descendenților lor de a produce titruri înalte de anticorpi serici față de un anumit antigen. E. R. Arquila și J. Finn (1), studiînd răspunsul imun al cobailor *inbred* la insulină bovină, au găsit că o linie (linia 2) de animale poate să producă anticorpi față de un determinant antigenic al insulinei față de care linia 13 dă rezultate negative, dar fără să se poată stabili precis locusul sau locusurile genelor responsabile de acest control.

În cercetările cu antigene cu structură complexă s-a putut stabili doar că se realizează un control prin mai multe gene, situate în locusuri diferite. Descifrarea mai precisă a geneticii antigenului a devenit posibilă o dată cu utilizarea antigenelor sintetice și mai ales a polipeptidelor liniare și ramificate. Fără a putea epuiza bogăția de date acumulate, în cele ce urmează vor fi selecționate câteva experiențe exemplificatoare.

Copolimerul format din trei aminoacizi — GLA₅ — (acid glutamic, lizină și alanină, aceasta în proporție de numai 50%) s-a dovedit interesant prin faptul că este imunogen pentru 47% din șoarecii convenționali (Swiss), pentru toți indivizii aparținînd unor linii pure (C 3H și BALB/c) și fără nici un răspuns

la alte linii pure — $C_{57}B_1$, CBA — (33). Experiențele de încrucișare au arătat că răspunsul imun al șoarecelui este sub dependență genetică, în sensul că încrucișarea între indivizii care nu reacționează duce la urmași de aceeași categorie, în timp ce încrucișarea între șoarecii cu răspuns imun dă din 26 de urmași 23 care reacționează. Răspunsul șoarecelui la GLA₅ ar părea astfel să fie sub controlul unui singur factor genetic dominant, fără a se cunoaște modul de acțiune genică. Acest model și apoi cele efectuate cu L-poli-L-lizină și L-poli-peptide ramificate la șoareci *inbred* (26) au arătat că primele două sisteme prezintă tipurile mendeliene de transmitere a caracterelor ereditare, în timp ce în ultimul, controlul genetic este mult mai complex.

B. B. Levine și colab. (22) au stabilit că răspunsul imun la cobai față de dinitrofenil-poli-L-lizină este controlat de o singură genă autozomală, denumită „gena PLL”. Această genă nu controlează înglobarea antigenului în fagocite, degradarea sa intracelulară sau sinteza lanțurilor de imunoglobuline. Se pare că această genă modifică sinteza unei enzime cu specificitate de substrat pentru poli-L-lizină, care catalizează cuplarea haptenei cu ARN.

Pe de altă parte, controlul genetic față de un polipeptid multiramificat s-a constatat a fi realizat de un singur factor genetic principal, legat de locusul H_2 în grupul ligatural IX (31).

Toate acestea, alături de faptul că în experimentele pe linii *inbred* de șoareci formarea anticorpilor față de virusul gripal de diferite tipuri antigenice, legate de hemaglutinină, este controlată genetic, ridică problema caracteristicilor genetice care pot influența imunitatea conferită prin vaccinare (15). Pornind de la aceste date s-ar putea aduce explicații în relațiile dintre genotipul gazdei și cel al microorganismului din care este preparat un vaccin și gradul de protecție conferit organismului imunizat.

B. PRELUCRAREA ANTIGENULUI ȘI POZIȚIA MACROFAGULUI ÎN PROCESELE IMUNE

Ar fi simplist și eronat să se considere că un antigen poate declanșa un proces imunitar acționînd el însăși asupra celulei producătoare de anticorpi. De altfel s-a putut demonstra că celulele care formează anticorpi sînt lipsite de antigen (30). Este bine cunoscut că o substanță străină pătrunsă în organism este captată prin procese de endocitoză de celulele sistemului reticulohistiocitar, la acest nivel realizîndu-se cel puțin o etapă de discriminare a *selfului* și *non-selfului* (Moraru și Ghyka) (28).

Polimorfonuclearele neutrofile, prin bogatul lor bagaj enzimatic lizozomal, realizează în mod obișnuit o degradare avansată a substanței fagocitate, astfel încît aceasta își pierde capacitatea antigenică. Pornind de aici, o serie de lucrări au arătat că macrofagul reprezintă sediul celular al prelucrării antigenului și totodată joacă și funcția de depozitare a acestuia.

Macrofagele reprezintă o populație celulară heterogenă. Macrofagele care intervin în pregătirea stimulului imunogen pot acționa competitiv cu macrofagele care au probabil numai un rol de fagocitoză (19). Captarea antigenului de către macrofage este provocată de un anticorp specific (opsonină), care fie că opsonizează antigenul înainte de a întîlni macrofagul, fie că acest anticorp

este citofilic atașat macrofagului. Intervenția macrofagului necesită molecule anticorp, care în afară de pozițiile lor receptoare (situs de combinare) au în plus alte poziții, care pot să se atașeze de membranele macrofagelor, probabil prin acțiunea unei structuri din regiunea Fc (12). La un animal nestimulat antigenic specific, limfocitele mici secretă probabil cantitatea redusă de opsonine necesară să favorizeze captarea antigenului (38). Opsoninele joacă astfel un rol determinant în soarta antigenului, iar G. J. V. Nossal și colab. (30) consideră că sistemul opsonină-macrofag reprezintă un mecanism important, prin care antigenul este recunoscut ca străin.

Este un obiect de continuă discuție, fără a se putea da un răspuns definitiv, dacă trecerea antigenului prin macrofag este o treaptă esențială, obligatorie, atât pentru antigenul particulat, cât și pentru cel solubil, precum și dacă această treaptă este necesară pentru toate formele de răspuns imun (răspuns primar, secundar, reacție la greșă, hipersensibilizare etc.).

Lucrările lui M. Fishman și colab. (9—12) aduc o altă lumină asupra macrofagului în răspunsul imun. Acești autori au incubat macrofage cu bacteriofag T₂, au extras o fracțiune ARN din macrofage și au adăugat această fracțiune la celule limfoide, provenite de la un animal nestimulat specific antigenic, luându-se toate precauțiile pentru a înlătura posibilitatea contaminării acidului ribonucleic cu material antigenic. În acest sistem, celulele limfoide produc cantități mici de anticorpi față de antigenul bacteriofagic. În felul acesta, macrofagul nu realizează numai o prelucrare a antigenului, dar mai mult, el transmite informația de sinteză a anticorpului, prin acest ARN, care funcționează ca un mesager. Aceasta rezultă și mai clar din observația că ARN macrofagic de la un animal donor de un anumit alotip induce limfocitele unui animal recipient de un alotip diferit să producă anticorpi care prezintă markerii alotipici ai donatorului. Această posibilitate readuce în discuție însăși concepția de bază acceptată astăzi în răspunsul imun, teoria selecției clonale a lui Burnet, ca și problema „celulei cu memorie” (38).

Pe un alt plan, cercetări ulterioare centrate asupra macrofagului au arătat că din macrofagele care au captat antigenul se poate extrage o fracțiune ARN-proteină, ARN avînd o greutate moleculară prea mică pentru a putea funcționa ca mesager, iar componenta proteică provenind din antigen (12, 14). Acest complex acid ribonucleic-proteină declanșează un răspuns imunologic intens, dîndu-i-se de aceea denumirea de „superantigen”. Mecanismul prin care acest complex induce răspunsul imun nu este complet clarificat.

Trebuie să mai adăugăm că acizii nucleici sau oligonucleotide obținute din aceștia favorizează printr-un stimul nespecific biosinteza anticorpilor (29).

Pornind de la datele care situează macrofagul ca un rezervor de material antigenic, mai multe observații vin în sprijinul unui transfer intercelular direct decît transportarea lui la celulele imunologic competente pe calea circulației generale. În culturi *in vitro* s-au observat aderări între macrofagele și limfocitele provenite de la animalele stimulate antigenic. Au fost semnalate la limfocite prelungiri citoplasmice (*foot processing*), privite ca organite care realizează legătura cu macrofagul sau clone de limfocite formînd o coroană în jurul unui macrofag. Microscopia electronică a evidențiat punți citoplasmice directe între macrofage și celule limfoidale (25, 38).

În sfârșit, s-a susținut și posibilitatea ca macrofagul să aibă capacitatea de a forma el însuși anticorpi, punând în discuție dacă în formarea anticorpilor intervine o linie de celule, linia limfocitară, sau acesteia i se adaugă și macrofagul (27, 38).

Datele adeseori contradictorii, legate de intervenția macrofagului în procesele imunitare, sînt greu de apreciat datorită faptului că între macrofagul și limfocitul transformat blastic nu se pot face diferențieri precise. Ambele tipuri de celule pot fagocita, pot lega anticorpi citofili, pot adera de suprafața sticlei, dar celula limfoidă este rezistentă la serul antimacrofagic (16, 38).

Dar, trecînd peste toate acestea, să limităm pentru simplificare rolul macrofagului în procesul imun la captarea, concentrarea și transportul antigenului prin atașarea la receptori inițiali (molecule de anticorpi libere sau atașate de membrană), pentru ca astfel, determinanții antigenici liberi să fie prezențați limfocitului. În această secvență de fenomene pot exista cel puțin patru anomalii care să ducă la abolirea răspunsului imun, și anume: molecule de antigen deficitare, lipsa macrofagelor sau a macrofagelor capabile să prelucreze antigenul, lipsa receptorilor antigenici inițiali și, în sfârșit, lipsa limfocitelor care să prezinte receptorii antigenici finali. În apariția acestor defecte se pare că fenomenele ce țin de „funcțiile membranei” celulare pot juca un rol esențial.

C. CONTROLUL GENETIC AL COMPETENȚEI ȘI MEMORIEI IMUNOLOGICE; IMUNOCITELE

Cu toate că există unele controverse, majoritatea observațiilor converg spre a situa limfocitul mic din circulația periferică ca celulă care asigură competența și memoria imunologică, din care derivă imunocitele, celulele formatoare și/sau secretoare de anticorpi (8, 18, 19, 20).

Strămoșii acestei celule în evoluția ontogenetică se găsesc într-o celulă „sursă” din măduva hematogenă, ceea ce ridică problema dacă ea nu reprezintă punctul de diversificare în cele trei direcții: linia eritocitară, linia granulocitară și linia limfoidă. Această celulă sursă pare să nu fie antigenosensibilă și deci să nu fie o celulă imunocompetentă. Pentru a cîștiga această proprietate, celula trebuie să treacă prin timus, unde, sub influența unui factor timic (18), se transformă în celulă limfoidă. În această treaptă, printr-un mecanism genetic încă insuficient precizat, în timus și în organele cu funcții similare, ca bursa Fabricius sau echivalentele sale de la mamifere (la om posibil chiar amigdala), are loc o diferențiere care generează un spectru complet de celule competente, pentru toată gama de antigene cu care organismul va avea posibilitatea să se întâlnească în viața sa. În acest fel apar clone sau celule, capete de clone, cu competența lor imunologică definitivă.

Toate acestea pot fi susținute și de observația, că în timus are loc o producție rapidă de celule (10^9 timocite/zi/g țesut timic), independent de vîrsta animalului și de stimularea antigenică. Animalele *germ-free* (crescute în absență completă de floră microbiană) au extrem de puține limfocite în sistemul limfatic periferic, în timp ce producerea de timocite se face în aceeași proporție ca la animalul convențional (8).

Dacă în organism apare un antigen, care să reacționeze în mod specific cu celula timică, are loc o proliferare rapidă a structurilor limfatice periferice și, ca o consecință, apariția unui răspuns imun.

După cei care susțin că diferențierea clonală se realizează în lipsa stimulului antigenic, printr-o programare strict cromozomială (concepția liniei germinale), migrarea din timus și din celelalte organe limfoide primare și popularea structurilor limfatice periferice se fac după ce celulele timice au venit în contact cu antigenul corespunzător (8, 41).

Într-o altă posibilitate, celula timică populează continuu structurile periferice. În cazul când întâlnește antigenul specific se transformă într-o celulă producătoare de anticorpi — linia plasmocitară. În lipsa stimulului antigenic, avînd o viață scurtă, de cîteva ore pînă la cîteva zile, moare. Pentru celelalte structuri limfoide primare (bursă, plăci Peyer etc.), datorită faptului că au o structură mixtă — limfoepitelială și limforeticulară — întâlnirea cu antigenul și diferențierea în celulă imunocompetentă este posibil să se producă chiar la acest nivel (18, 19).

Stimularea antigenică se realizează prin prezența pe suprafața celulei limfatice a unor macromolecule cu structură identică cu cea a anticorpului pe care celula îl va produce și specific complementară grupării imunodominante a antigenului, reprezentînd după Jerne (19) receptorii finali. Această moleculă cu structură de anticorp este combinată cu alte macromolecule și lipide, pentru

a realiza funcția completă de receptor, fiind inclusă structural în membrana celulară. Un model interesant a fost propus de Dreyer și Gray (8) (fig. VII, 1).

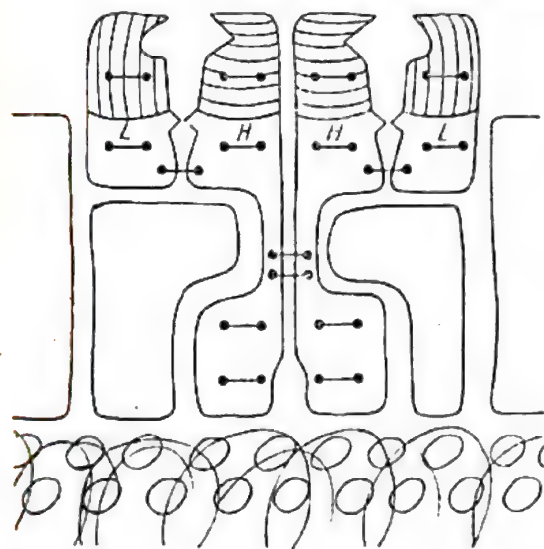


Fig. VII, 1. — Model ipotetic al receptorului final de pe celula limfoidă, care este reprezentat ca o proteină cu mai multe lanțuri, clădită în structura membranei unei celule diferențiate. Numai porțiunile hașurate, care proemină din membrană, conferă specificitatea (8).

Ca o consecință a stimulului antigenic, celula limfoidă, la o nouă întâlnire cu antigenul, suferă o transformare blastică, se divide activ, ducînd la apariția unor celule mari pironinofile și apoi la linia plasmocitară producătoare activă de anticorpi (16, 30). Această transformare blastică poate fi realizată *in vitro* și sub influența altor agenți, cum ar fi fitohemaglutinina, filtratul de cultură de stafilococ, serul antiimunoglobulinic și antilinfocitar (32), fără însă să se ajungă la secreția de anticorpi.

Dispariția stimulului antigenic determină încetarea multiplicării celulelor limfatice corespunzătoare și, în consecință, transformarea posibilă în limfocit

mic, cu viață lungă (de ani de zile, chiar 10 ani), constituind un lot de celule stimulate antigenic, capabile să răspundă direct și rapid unui nou stimul antigenic — celula cu *memorie imunologică*.

Un imunocit poate produce 1 000 de molecule anticorpi pe secundă. Dar toate moleculele de imunoglobuline sintetizate de către o celulă sînt uniforme; ele aparțin aceleiași clase, subclase, au același tip de lanț ușor, sînt de același alotip și au aceeași specificitate — reacționează cu o singură grupare antigenică imunodominantă. Aceasta înseamnă că există o corespondență perfectă între eterogenitatea imunoglobulinelor și diversificarea imunocitelor (20).

Există controverse privind posibilitatea ca diferitele clase de imunoglobuline să fie sintetizate de tipuri distincte de celule, în cursul diferențierii lor. Astfel se consideră că limfocitele tinere sintetizează IgM, iar plasmocitele IgG și IgA. După alte opinii, celulele blastice ale seriei plasmocitare produc IgM, pe cînd cele mature IgG și IgA.

Atingerea acestui nivel înalt de diversificare, puțin întîlnit la alte sisteme celulare, a avut o evoluție filogenetică complexă. Dintr-o genă primordială, este posibil ca prin duplicare și mutație (19) să fi apărut un set de gene care codifică polipeptidele imunoglobulinelor. Capacitatea de a produce anticorpi apare în scara de evoluție la vertebrate, pentru ca la păsări să se întîlnească aceleași funcții și aceeași eterogenitate de răspuns imun ca la mamifere și om. Două concepții, fiecare propunînd modele variate, caută să explice această eterogenitate de răspuns imun:

a) După concepția liniei germinale, în evoluția filogenetică au apărut în celulele germinale gene de structură și reglatoare, care asigură setul de informație genetică pentru toate tipurile de anticorpi.

b) În acord cu concepția liniei somatice, în celulele germinale există un set redus de gene. Diversitatea este generată în linia somatică, în timpul diferențierii imunocitului prin mecanisme genetice adecvate (17, 19, 20).

Este greu de ales între o explicație sau alta din cele date bazei genetice a diversificării imunocitului. Așa cum arată M. Cohn (5), în lumina liniei germinale, depozitarea memoriei antigenice este organismul, individul, prin celulele sale germinale, în timp ce după concepția diversificării somatice, „memoria imunologică” este păstrată de celulă (limfocitul cu memorie).

Pe de altă parte, apariția competenței și memoriei imunologice ține de dezvoltarea ontogenetică, astfel că răspunsul imunitar nu poate să se realizeze în totalitatea sa decît după naștere la majoritatea speciilor de mamifere sau, în general vorbind, ea se realizează în perioada perinatală.

Ținînd seama de toate cele arătate în controlul genetic al răspunsului imun la nivelul competenței imunologice și imunocitelor, se pot produce anomalii, care pot interesa celula-sursă (măduva osoasă), cîștigarea competenței imunologice (organele limfoidale primare), sinteza anticorpilor de către imunocit. În tabelul VII, 1 se găsesc exemplificări privind unele afecțiuni imunitare genetice, care se explică pe această bază.

D. CONTROLUL GENETIC AL SINTEZEI IMUNOGLOBULINELOR

Imunoglobulinele sînt proteine eterogene, cu o structură definită: lanțuri polipeptidice grele (H) și ușoare (L), legate prin punți disulfidice, la care se atașează o componentă carbohidratică. În raport cu proprietățile antigenice ale lanțurilor grele se disting 5 clase de imunoglobuline: IgG, IgM, IgA, IgD și IgE (corespunzător lanțurilor γ , μ , α , δ și ϵ). În clasele IgG și IgA s-au

descriș, pe aceeași bază, subclase. Lanțurile L la toate aceste imunoglobuline pot fi întâlnite ca două tipuri: K și lambda. O moleculă de imunoglobulină are un singur tip de lanț L și H. În figura VII, 2, după Cebra (1969) (4),

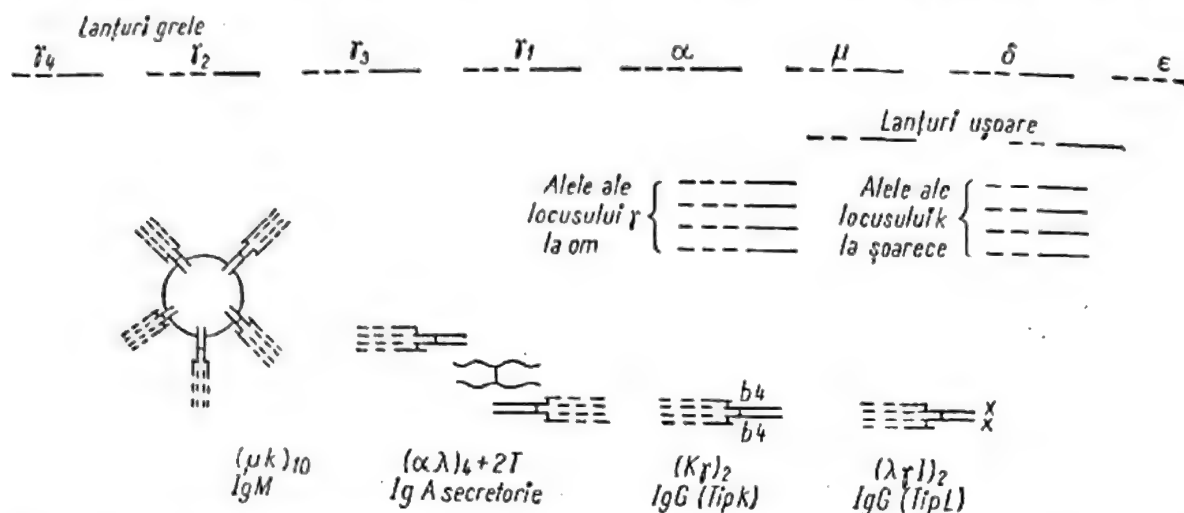


Fig. VII, 2. — Reprezentarea schematică a lanțurilor polipeptidice ale imunoglobulinelor și modele ale asamblării moleculelor polimorfe de imunoglobuline. Exemplele de markeri alotipici situați pe subclasele de lanțuri grele și pe tipurile de lanțuri ușoare sînt reprezentate pentru imunoglobuline de om și iepure (după J. J. Cebra) (4).

este dată o reprezentare grafică schematizată a acestor cunoștințe. În plus, la om, șoarece și iepure, cel puțin, s-au descriș și alotipurile date de gene alele atît pentru lanțurile H, cît și pentru lanțurile L.

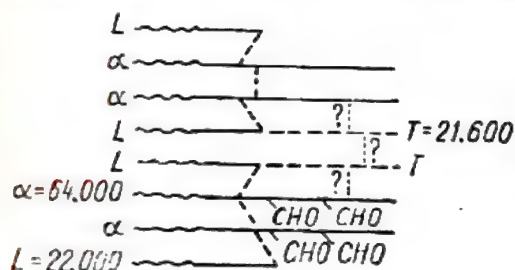


Fig. VII, 3. — Un model propus de J. J. Cebra (4) pentru IgA secretorie. CHO- reprezintă carbohidratul. Liniile întrerupte, punctiforme, reprezintă legăturile disulfidice dintre lanțuri, iar liniile întrerupte mai mari lanțul piesei de transport (T).

Imunoglobulinele asecretorii au în afară de aceste lanțuri, un alt polipeptid, așa-numita „piesă de transport“ (T), cu o situație particulară în molecula de imunoglobulină (fig. VII, 3).

În general, imunoglobulinele au funcție de anticorp, excepție făcînd unele imunoglobuline patologice, cum sînt proteinele mielomatoase, la care posibilitatea de a reacționa cu antigenul este doar postulată. Imunoglobulinele anticorp sînt înzestrate cu capacitatea de a intra în reacție specifică cu o grupare imunodominantă corespunzătoare de pe molecula de anticorp după modelul broască-cheie, imaginat pentru relațiile enzimă-substrat. Fiecare moleculă de anticorp aparține unei clase, subclase, tip, alotip și idiotip la care se adaugă specificitatea pentru antigen. Toate acestea ne arată că într-un organism există o eterogenitate extrem de mare de imunoglobuline, care poate fi estimată la cifre care depășesc 1 000 000 de tipuri de molecule.

Această eterogenitate s-a văzut, în urma cercetărilor efectuate în ultimul timp, că este în esență în relație cu secvența de aminoacizi din care este constituit fiecare tip de lanțuri polipeptidice. A rezultat că polipeptidul lanțurilor L este constituit din două părți aproximativ egale: o jumătate cu secvență constantă de aminoacizi (C), caracteristică de tip (K sau lambda) și cealaltă cu o secvență de aminoacizi variabilă (V), care se modifică de la o proteină la alta, chiar și în cazul proteinelor Bence-Jones. Lanțurile grele sînt și ele constituite din două părți — constantă și variabilă — dar regiunea variabilă reprezintă în acest caz probabil mai puțin de un sfert din lungimea polipeptidului (21, 34, 35, 39).

În regiunea C pot să fie prezente diferențe considerate ca minore în secvența de aminoacizi în raport cu clasa, tipul și alotipul moleculei. Astfel, în lanțul ușor k uman, înlocuirea leucinei și valinei duce la o modificare antigenică, caracteristică de alotip (32).

Regiunile variabile ale lanțurilor L și H sînt cele care conferă o conformație diferită a poziției de recombinare a anticorpului, specifică antigenului, complementară grupării imunodominante a acestuia.

Se poate ajunge la concluzia că secvența de aminoacizi din lanțurile polipeptidice este cea care determină conformația pozițiilor de combinare cu antigenul și totodată și determinanții antigenici proprii ai imunoglobulinei.

Din datele mai multor cercetări reiese că poziția de recombinare a anticorpului se găsește pe extremitatea NH_2 terminală (porțiunea variabilă) a lanțurilor polipeptidice L și H. Se pare că specificitatea imunologică este localizată pe lanțul H, dar pentru manifestarea completă și deplină a funcției de recombinare sînt necesare și lanțurile L, care pot participa la alcătuirea situsului de recombinare fie direct, fie mai probabil prin menținerea unei anumite configurații pe lanțul H. În felul acesta, lanțul L ar avea rolul unui reglator de conformație. Poziția de recombinare de pe lanțul H poate fi constituită din 10 resturi de aminoacizi, asamblarea lor determinînd specificitatea de anticorp. Acești 10 aminoacizi oferă posibilitatea unei variații genetice de 20^{10} , ajungîndată este specializată (5, 20, 40).

În acord cu o categorie de ipoteze, orice set haploid de cromozomi are în constituția sa un număr mare de gene, care acoperă codificarea tuturor imuno-anticorpi trebuie să existe secvențe corespunzătoare de nucleotide în ADN imunocitului. De aici rezultă că în biosinteza imunoglobulinelor trebuie să intervină gene structurale care să codifice lanțurile ușoare și gene răspunzătoare pentru lanțurile H. La acestea se adaugă genele care realizează componenta carbohidratică. Aceasta înseamnă că imunocitele trebuie să posede un mare număr de gene, care să codifice marea varietate de imunoglobuline pe care le poate sintetiza un organism. Se pune astfel problema dacă fiecare celulă plasmatică conține toate genele ce asigură sinteza eterogenității de molecule anticorpi sau numai un set de gene limitate la imunoglobulina pentru care o celulă dată este specializată (5, 20, 40).

În acord cu o categorie de ipoteze, orice set haploid de cromozomi are în constituția sa un număr mare de gene, care acoperă codificarea tuturor imunoglobulinelor. În acest caz, fiecare celulă plasmatică este supusă unei restricții

Clasificarea bolilor prin carență imunitară

Sindrom	Caracteristici histopatologice			Nr. de limfocite circulante	Deficiențe imunoglobulinice	Anomalii imunoglobulinice		Mecanism genetic	Observații
	Timus	Plasmocite	Diverse			Răspuns umoral	Răspuns cu suport celular		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
gammaglobulinemie infantilă cu transmisie recesivă legată de sex ¹	Normal	Absent		Normal	Insuficiență gravă de toate clasele	Absența sau insuficiența gravă a răspunsurilor la toți antigenii	Normal	Legat de cromozomul X	Infecții recurente cu germeni patogeni extracelulari
Insuficiență selectivă de Ig, IgA	Normal	Absența plasmocitelor producătoare de IgA		Normal	Absența IgA seric și IgA de secreție. Alte concentrații de Ig obișnuit normale	Normal, afară de anticorpii IgA	Normal	Necunoscut; unele ar fi autozomale, cu transmisie recesivă	Bronșite, sinuzite, enteropatii cu exsudație. Unii din subiecți rămân sănătoși
Ig, M, IgG Ig, D, Ig	Încă necunoscute								
Hipogammaglobulinemie tranzitorie a copilului	?	Insuficiente		Normal	Scăderea IgG	De obicei insuficient sau absent	Normal	Boli familiale?	Pot prezenta mai târziu concentrații slabe de IgG sau concentrații subnormale

¹ Boala Bruton.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Deficiență primitivă de imunoglobuline nelegate de sex; apariția și expresia variabilă (aberații primitive de imunoglobuline) ²		De obicei insuficiente, dar variabile	Hiperplazie reticulară, hiperplazie tonsilară, rar hiperplazie gigantofoliculară a ganglionilor limfatici și a splinei	De obicei normal	Scăderea Ig și anomalii totdeauna prezente, dar afectate de clasă, gravitatea și natura modificării variabile	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Răspunsuri insuficiente la unele antigene (variabile)	Transmisie autosomală recesivă posibilă în unele cazuri Posibil multifactorial	Posibil un grup complex din care s-ar putea separa forme particulare, definite prin etiologia și caracterele lor genetice
Timom cu agammaglobulinemie ³ (Good și Zak, 1956; Jeunet și Good 1968)	Hipertrofie timică de tip celular epitelial fuziform al stromei	Insuficiente sau absente		Insuficient, scăderea progresivă, adesea pînă la concentrații extreme de joase	Scăderea netă a tuturor claselor	Răspuns insuficient la toate antigenele (constant) ⁴	Răspunsuri insuficiente la toate antigenele (constante)	Factor genetic?	Absența constantă sau diminuarea extremă a eozinofilelor în sânge și măduvă. Uneori aplazie eritroblastică asociată
Carență imunitară cu trombopenie și eczemă ⁴	Normal	Prezență normală	Insuficiență progresivă a limfocitelor regiunilor paracorticale dependente de timus	Insuficient și scădere progresivă	Totdeauna o insuficiență de Ig dar clasele afectate și natura modificării variabile (scăderea IgM și creșterea IgA):	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (absența izohemaglutininelor și absența răspunsurilor la antigene de membrană glucidice)	Răspunsuri slabe numai la unele antigene (variabile)	Transmisie recesivă legată de cromozomi X	Tulburări asociate: eczemă și trombocitopenie de origine centrală

² Acest grup cuprinde insuficiențele primare „cistigate”, disgamaglobulinemiile și formele „congenitale” nelegate de sex, cu nomenclaturile precedente.

³ Sindromul Good.

⁴ Sindromul Wiskott-Aldrich.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ataxie-telangiectazie ⁵	Tip embrionar fără organizare în zonele corticale și medulare. Fără corpusculi Hassall	Variable	Diminuarea limfocitelor în zona dependentă de timus	Scădere ușoară	Normal insuficiență de Ig, dar, clasele afectate și natura modificărilor variabile. Deficiență frecventă de IgA (variabilă)	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (variabile)	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Autozomal, transmisie recesivă	Tulburări asociate: ataxie cerebeloasă, progresivă; disgenezie ovariană; telangiectazie în toate țesuturile, cu apariție uneori tardivă
Carență imunitară ereditară cu limfopenie	Hipoplazie timică. Scăderea importantă a celulelor limfoide și a corpusculilor Hassall.	Variable	Scăderea considerabilă a limfocitelor tisulare dar focare limfocitare în splină și în ganglionii limfatici	Slab dar variabil	Insuficiență de Ig și prezența constantă a unei anomalii dar clasa și natura modificării variabile	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Transmisie recesivă legată de cromozomul X sau autozomală	Moarte frecventă prin infecție fungică sau virală în prima copilărie
Agammaglobulinemie alimfocitară autozomală, cu transmisie recesivă ⁶	Timus hipoplazic adesea necoborât; absența celulelor limfoide și a corpusculilor Hassall	Absente	Absența limfocitelor în țesuturi	Foarte mic	Insuficiența tuturor claselor	Absența sau insuficiența răspunsului la toate antigenele (constantă)	Răspunsuri slabe la toate antigenele (constante)	Autozomal, cu transmisie recesivă	Subiecții atinși nu supraviețuiesc după prima copilărie

⁵ Sindromul Louis Barr.

⁶ Limfocitoză esențială Glazmann și Riniker (agammaglobulinemie de tip Suisse).

1	2	3	4 "	5	6	7	8	9	10
Limfopenie cu transmisie autozomală recesivă cu imunoglobuline și plasmocite normale ⁷	Hipoplazie timică absența celulelor limfoide și a corpusculilor Hassall	Prezență normală	Insuficiență marcată de limfocitele tisulare	Insuficient	Prezența normală a tuturor Ig	Prezența anticorpilor, dar răspunsuri încă insuficient studiate	Absența sau scăderea răspunsurilor la toate antigenele (constante)	Transmisie autozomală recesivă	Poate fi considerat ca o entitate dar constituie probabil o formă cu himerismul sindromului precedent
Aplazie timică ⁸	Fără evoluția de epiteliu la fantele brahiale 3 și 4 Lipsa timusului	Prezență normală	Absența paratiroidelor. Lipsa limfocitelor în zone paracorticale dependente de timus. Prezența centrilor germinativi	Puține dar variabile. Uneori în limite normale	Prezența normală a tuturor Ig	De precizat, dar aparent multe răspunsuri insuficiente	Absența răspunsurilor la toate antigenele (constant)	Nimic nu indică un mecanism genetic	De obicei recunoscut în cursul perioadei neonatale și denumit tetania nou-născutului

⁷ Sindromul Nézélof.

⁸ Sindromul Di George.

Tabel reproduș după raportul grupului de experți O.M.S. (31).

(întîmplătoare?), pentru a se ajunge la producerea unui singur tip de anticorp (teoriile liniei germinale).

Celălalt grup de ipoteze (teoriile liniei somatice), pornește de la presupunerea că în celulele germinale există numai una sau puține gene pentru lanțurile ușoare și grele. În dezvoltarea somatică, în timpul diviziunilor repetate, aceste gene sînt împlător modificate, pentru a produce o mare varietate de gene anticorp, fiecare din aceste gene fiind prezentă numai într-un mic număr din celulele precursorale ale imunocitelor.

Există o mare varietate de căi, prin care un număr mic de gene duce la apariția unui foarte mare număr de gene anticorp. O astfel de cale presupune că genele pentru lanțurile L și H sînt hipermutabile. Este greu de imaginat acest model datorită faptului că mutația trebuie să se limiteze la o jumătate din fiecare tip de lanț.

O altă cale care poate genera un mare număr de gene diferite este cea care asigură fiecărei celule genele distincte lanțurilor L și H ale unui anticorp dat. Fiecare din aceste gene are într-o jumătate (terminația COO^-) nucleotide identice, iar în cealaltă jumătate (extremitatea NH_2) secvență diferită de nucleotide. *Crossing-over*-ul între aceste gene înrudite poate produce apoi noi secvențe nucleotidice.

Este greu în prezent de opinat pentru unul din multele modele (5, 8, 17, 19, 21) propuse de susținătorii liniei germinale sau a celei somatice.

În orice caz, indiferent de căile, de mecanismele întime prin care se ajunge la diversificarea celulară, corespunzătoare eterogenității imunoglobulinelor, este clar că lanțurile L și lanțurile H sînt codificate de gene (cistroni) de structură distinctă. Rămîne însă de precizat dacă polipeptidele L și/sau H sînt codificate de o singură genă (cistroni) atît pentru porțiunea constantă, cît și pentru cea variabilă sau de cistroni diferiți — c și v — (5, 21). Faptul important îl constituie însă, independent de una sau alta din cele două posibilități, că ARN mesager este reprezentat pentru fiecare polipeptid dintr-o singură moleculă, iar polipeptidul se formează ca o unitate pe un singur polizom.

A rezultat, dintr-un mare număr de observații, că lanțurile L sintetizate pe polizomul corespunzător, sînt eliberate în fondul metabolic celular. Un lanț L liber se atașează de un lanț H prezent pe polizomul greu, declanșîndu-se astfel eliberarea unei jumătăți de globulină, care se autoasamblează apoi cu o altă jumătate, formînd scheletul imunoglobulinei. Aceste molecule de polipeptide rămîn în compartimentul celular microzomal, urmînd să aibă loc, în mai multe trepte, atașarea carbohidratului. Sînt astfel necesare mai mult de 8—20 minute pentru ca molecula de anticorp completă să fie secretată (19).

Dacă aceasta este linia generală de sinteză a imunoglobulinelor, trebuie menționat că în cazul imunoglobulinei IgA secretorie, piesa T este sintetizată într-o celulă separată, cu o situație anatomică distinctă de celula care formează restul moleculei (4).

Reiese astfel că în controlul genetic al anticorpogenezei pot să apară anomalii care interesează în primul rînd genele de structură. Fără îndoială că o consecință mai importantă, mai specifică o au defectele care interesează genele de structură care codifică sinteza polipeptidelor, în raport cu cele care inter-

vin în componenta carbohidratică. Asemenea defecte pot apoi să intereseze genele reglatoare care controlează genele de structură.

Multe din bolile care au la bază o carență imunitară, pot să prezinte puncte de declanșare, legate de diferitele relații din controlul genetic al răspunsului imunitar, schițate anterior.

Un grup de experți O.M.S. (31), pornind de la cunoștințele existente în acest domeniu, au propus o clasificare a bolilor de carență imunologică, semnalând defectele genetice definite și punând în lumină pentru fiecare entitate următoarele: baza genetică, constatările histopatologice, aspectele cantitative ale deficitului (celular, imunoglobulinic sau funcțional) și principalele perturbări caracteristice fiecărui sindrom.

Au fost luați în considerație în această clasificare (*tabelul VII, 1*) o serie de factori, printre care cei mai importanți sînt formula imunologică, prezența sau absența plasmocitelor în țesuturi, starea anatomofuncțională a timusului, reacțiile imunitare umorale și cele cu suport celular.

În afară de caracterizarea acestor afecțiuni, cu toate că pentru unele boli atopice (rinita alergică la polen, astmul și alte stări alergice) se admite o concentrare familială, în stadiul actual al cunoștințelor, conturarea clinică și biochimică a acestora nu permite o analiză genetică concludentă. Se poate aprecia că intervenția probabilă în aceste sindroame ale clasei de imunoglobuline IgE trebuie să atragă în mod special atenția asupra necesității studierii geneticii sintezei acestor imunoglobuline.

Deoarece trăsăturile ereditare ale bolilor autoimune sînt analizate într-un capitol din acest volum (O. Fodor, N. Părau, G. Nicoară), mai trebuie semnalat că există o predispoziție ereditară pentru tumorile maligne limforeticulare.

Studierea din ce în ce mai aprofundată a geneticii răspunsului imun permite o privire de perspectivă optimistă a cunoașterii acestuia și deci și a caracterizării bolilor imune ereditare.

BIBLIOGRAFIE

1. Arquila E. R., Finn J. — *J. exp. Med.*, 1965, 122, 771.
2. Berken A., Benacerraf B. — *J. exp. Med.*, 1966, 123, 119.
3. Burtin P., Buffe D. — Immunopathology IV-th Int. Symp., edit. P. Grabar, P. Meischer, 1965, p. 273.
4. Cebra J. — *Bact. Rev.*, 1969, 33, 159.
5. Cohn M. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, 671.
6. Crowle A. J. — *Ann. Allergy*, 1966, 24, 195.
7. Dannenberg A. M. Jr. — *Bact. Rev.*, 1968, 32, 85.
8. Dreyer W. J., Gray W. R. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 614.
9. Fishman M. — *J. exp. Med.*, 1961, 114, 837.
10. Fishman M., Hammerstrom R. A., Bond U. P. — *Nature*, 1963, 198, 549.
11. Fishman M., Adler F. L., Holub M. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 439.

12. Friedman H. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 505.
13. Gheție V. — Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, București, 1969, 67—91.
14. Gottlieb A. A. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 471.
15. Gowen J. W., Stadler J. — *J. Infect. Dis.*, 1967, 117, 129.
16. Hannoun C., Bussard A. E. — *J. exp. Med.*, 1966, 123, 1 035—1 046.
17. Hood L., Talmage D. W. — *Science*, 1970, 168, 325.
18. Jean R. și colab. — *J. Méd. Montpellier*, 1967, 11, 390.
19. Jerne N. K. — *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.*, 1967, XXXII, 591.
20. Jerne N. K. — *Zbl. Bakt.*, 1967, 25, 32.
21. Lennox E. S., Cohn M. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 365.
22. Levine B. B., Green J., Benacerraf B. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 277.
23. Lüderitz O., Staub A. M., Westphal O. — *Bact. Rev.*, 1966, 30, 192.
24. Maurer P. H., Pinchuck P. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 301.
25. Mazzei D., Sessa, Rugarli C. — *Boll. Ist. sieroter T. milan.*, 1969, 48, 507.
26. McDevitt H. O., Sela M. — *J. exp. Med.*, 1965, 122, 517.
27. Mesrobianu I., Berceanu St. — Imunologie și imunopatologie, Ed. medicală, București, 1968.
28. Moraru I., Sulica A. — Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, București, 1969, p. 93.
29. Nestorescu N., Ghyka G. — Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, București, 1969, p. 30—65.
30. Nossal G. J. V., Szendenberg A., Ada G. L., Austin C. M. — *J. exp. Med.*, 1965, 119, 485.
31. O. M. S. — Série de rapports techniques, 1968, 402.
32. O. M. S. — Série de rapports techniques, 1969, 423.
33. Pinchuck P., Maurer P. H. — *J. exp. Med.*, 1965, 122, 673.
34. Putnam F. W. — *Science*, 1969, 163, 633.
35. Reisfeld R. H., Sheldon D., Nisonoff A. — *Immunochem.*, 1965, 2, 155.
36. Schlossman S. E. — *New Engl. J. Med.*, 1967, 277, 1 355.
37. Sela M. — *Science*, 1969, 166, 1 365.
38. Sullitzeanu D. — *Bact. Rev.*, 1968, 32, 404.
39. Terry W. D., Parker A. S. Jr., Reisfeld R. A. — *Science*, 1966, 152, 1 628.
40. Watson J. D. — Molecular Biology of the Gene, Ed. W. A. Benjamin, New York, 1965, p. 414—439.
41. Weissman J. I. — *J. exp. Med.*, 1967, 126, 291.
42. Wilson G. S., Miles A. A. — Topley and Wilson's Principles of Bact. and Imm., vol. I, Ed. E. Bronold, Londra, 1964, p. 302—383.

UNELE PROBLEME GENETICE ALE BOLI- LOR AUTOIMUNE

O. Fodor, Gh. Nicoară, N. Părau

În ultimii ani, noțiunea de imunitate este tot mai des utilizată în activitatea medicală curentă. Problema este abordată pe planuri diferite, începând cu acela al unui sistem morfofuncțional de relație a organismului cu mediul, al unui mecanism patogenetic, pînă la acela al unui domeniu de patologie clinică, inclusiv orientare terapeutică.

De asemenea, cunoștințele cele mai recente ale geneticii moleculare, celulare și clinice sînt folosite frecvent în diversele sectoare ale medicinei actuale.

Cu toate progresele deosebite pe care cele două discipline, imunologia și genetica, le-au realizat, în ambele domenii persistă încă numeroase aspecte insuficient elucidate. De aici apare dificultatea abordării problemelor comune, de interferență sau conexe, pe care le ridică imunitatea și genetica pe planul patologiei umane.

Bolile autoimune pot fi considerate ca expresie a conflictului dintre antigenul sensibilizant și factorii umorali sau celulari ai răspunsului imun, la nivelul organului-țintă. Acest conflict rezultă din perturbarea fenomenului toleranței imunologice. Apare deci că o boală autoimună poate surveni ca urmare a unor tulburări care interesează cei doi termeni ai conflictului patologic: antigenul și sistemul imunologic competent. Din acest motiv, problemele comune ale imunologiei și geneticii pot fi împărțite în două categorii: fundamentale și clinice.

I. Aspecte genetice normale ale imunității

II. Date privind intervenția unui factor ereditar în bolile autoimune.

Aspectele fundamentale ale imunogeneticii, grupate în prima categorie, necesită o discuție succintă în scopul plasării problemelor genetice ale patologiei imunologice în ansamblul cunoștințelor biologice și morfologice actuale.

I. ASPECTE GENETICE NORMALE ALE IMUNITĂȚII

1. ANTIGENUL

a) DETERMINISMUL GENETIC AL AUTOANTIGENELOR TISULARE

Pentru natura genetică a structurilor antigenice tisulare normale atît sub raportul complexității, cît și al specificității există numeroase argumente.

Astfel, caracterul genetic determinant al *antigenelor eritrocitare și leucocitare*, care formează diferitele sisteme și grupe sanguine, formula lor genotipică și expresia fenotipică fac parte din domeniul cunoștințelor clasice (32).

În aceeași categorie se înscriu diferitele fracțiuni *proteice plasmatice* (8, 35, 36), care realizează grupe genetice determinate. Aici se pot încadra haptoglobinele, transferinele (16, 31), colinesteraza serică (24), sistemul Gc al α_2 -globulinelor serice (22) și sistemele Gm (19), Inv (33) și Ag (1) ale imunoglobulinelor.

Din cercetările privitoare la imunitatea de transplant și toleranța imunologică câștigată (3, 4) apare dovedită de asemenea natura genetic determinată a *antigenelor tisulare, de histocompatibilitate*, care prezintă specificitate de grup, de specie, de rasă și de organ (17, 34). Antigenele tisulare sînt de asemenea diferite, în funcție de proveniența țesutului din cele trei foițe embrionare (20). În raport de specificitatea lor se vorbește despre hetero-, homo, izo- și auto-antigene.

Natura genetică a autoantigenelor tisulare și a specificității lor de organ apare și din dezvoltarea *filogenetică și ontogenetică* a acestora. În cazul cristalinelor de manifer, de exemplu, sînt cunoscute 3 tipuri de antigene, al căror moment de apariție în scara filogenetică, răspîndire la diferite specii de mamifere și specificitate de organ sînt diferite.

Reiese deci că substanțele antigenice tisulare sau umorale, reprezentate de structuri sau produse celulare complexe, apar în cursul dezvoltării filo- și ontogenetice, ca expresie a cerințelor activității unor structuri și funcții specializate.

2. SISTEMUL IMUNOLOGIC COMPETENT

a) DETERMINISMUL GENETIC AL SUBSTRATULUI CELULAR AL IMUNITĂȚII

În prezent, este binecunoscut rolul țesutului limfoid în realizarea fenomenului de *competență imunologică*, înțelesă ca o capacitate de reacție specifică a unui sistem celular specializat în condițiile stimulării antigenice. Aceasta se traduce prin sinteză de anticorpi, hipersensibilitate întârziată și capacitate de eliminare a grefelor.

Caracterul genetic a acestui sistem celular, expresie a evoluției speciilor și a diferențierii celulare, reiese din studiul dezvoltării sale filo- și ontogenetice. Astfel, pe scară filogenetică, un sistem imun apare numai la nivelul vertebratelor. Mai mult chiar, vertebratele inferioare, cum sînt peștii gelatinoși, sînt lipsite de capacitate de răspuns imun și de imunoglobuline.

Primele specii capabile de o reacție imună și la care sînt prezente imunoglobulinele sînt peștii cartilaginoși inferiori. Fenomenul coincide cu dezvoltarea din sistemul branhial al acestora, a timusului, principalul organ-sursă a celulelor imunologic competente (28, 30).

La păsări, dezvoltarea normală a populației de celule imunologic competente stă sub dependența a două organe primare (bursa Fabricius și timusul), din care se formează două populații specializate de celule (2, 5, 28). Unele produc anticorpi circulanți și hipersensibilitate întârziată și provin din bursă, altele produc eliminarea grefelor și provin din timus.

Mamiferele sînt înzestrate cu un singur organ limfoid primar, timusul, răspunzător de funcțiile combinate ale celor două tipuri de celule imunologic competente. Originea și dezvoltarea celulelor imunologic competente la mamifere sînt redată schematic în figura VIII, 1. Din celulele epiteliale timice apar

În afară de rolul său de sursă a celulelor competente imunologic, timusul mai îndeplinește și funcția de restaurare a capacității funcționale a sistemului imun, capacitate care poate fi alterată prin cauze diferite. Mecanismul acestei restaurări nu este încă cunoscut.

Dependența genetică a sistemului celular imunologic competent apare și din studiul dezvoltării sale embrionare (18). Astfel, la embrionul de broască, pînă la vîrsta de 45—50 de zile, sînt dezvoltate toate tipurile de leucocite, cu excepția limfocitelor mici. O dată cu apariția acestora din urmă, grefele omologe tolerate pînă la această vîrstă vor fi eliminate (28). În același sens pledează efectul dezastruos produs de ablația timusului asupra capacității de apărare a mamiferelor, în cazul cînd intervenția are loc la începutul vieții, cînd potențialul imunologic nu este dezvoltat, ca și efectele neglijabile ale timectomiei într-o perioadă ulterioară (28).

Posibilitatea obținerii unei toleranțe imunologice induse prin administrarea antigenelor în perioada vieții embrionare și insuccesul încercărilor de a induce o astfel de toleranță în perioada postnatală pledează în același sens (3, 4).

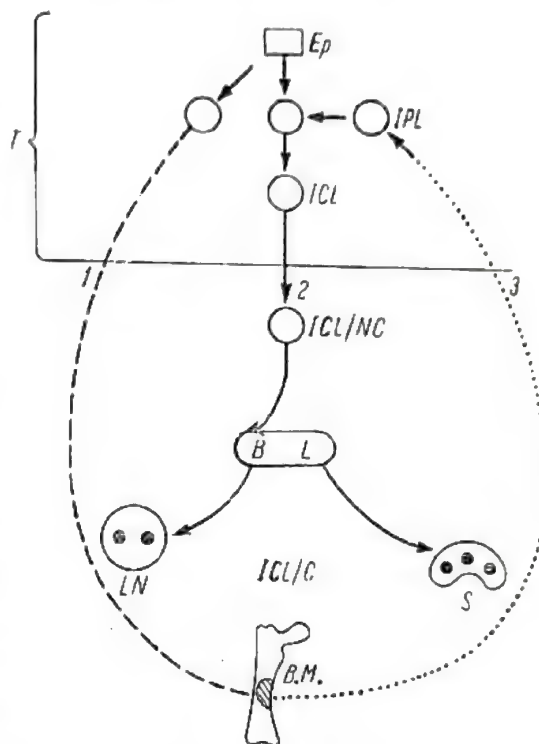


Fig. VIII, 1. — Diagramă ilustrînd o ipoteză celulară privind originea celulelor imunologic competente.

Celulele epiteliale (Ep) din timus (T) produc celule limfoide cu potențial imunologic (IPL.) Unele migrează din timus (1) înainte de naștere și apar în organe, cum ar fi măduva osoasă (BM). Altele se diferențiază în continuare în timus pentru a deveni celule imunologic competente (ICL). Acestea migrează în afara timusului (2) aproximativ la vîrsta nașterii, pentru a circula în sînge și limfă (B și L). Acestea sînt limfocite fără memorie (ICL/NC). După stimularea antigenică, ele se fixează în ganglionii limfatici (LN) și splină (S), unde inițiază o linie de limfocite cu memorie (ICL/C). Celulele cu potențial imunologic se pot întoarce în timus (3), pentru a cîștiga competență imunologică ori decît orisurvine o depleție celulară în ganglionii limfatici și splină [după J. F. A. P. Miller, (28)].

În concluzie, dezvoltarea celulelor cu competență imunologică depinde de existența primelor organe limfoide care apar pe o anumită treaptă a evoluției filogenetice și a dezvoltării ontogenetice, timusul și bursa Fabricius. Proliferarea celulelor limfoide la acest nivel se află sub un control genetic intrinsec, independent de stimularea antigenică. În organele limfoide secundare, splina și ganglionii limfatici, celulele imunologic competente pot prolifera și reacționa imun în urma stimulării cu antigene potrivite specificității lor funcționale.

b) DETERMINISMUL GENETIC AL IMUNOGLOBULINELOR, SUBSTRAT AL ANTICORPILOR CIRCULANȚI

Se cunoaște că substratul morfologic al anticorpilor circulanți este reprezentat de imunoglobuline. În consecință, sinteza globulinelor anticorpi este un proces determinat genetic, identic cu acela al sintezei proteinice în general și el are loc la nivelul ribosomilor celulelor secretorii, în baza codului genetic deținut de ADN. Atât imunoglobulinele, cât și anticorpul sunt formați din câte două lanțuri polipeptidice ușoare (lanțuri L) și două lanțuri polipeptidice grele (lanțuri H), cu excepția anticorpilor care aparțin imunoglobulinelor M, care au o structură polimerică (13, 39) (fig. VIII, 2). Se știe că de sinteza

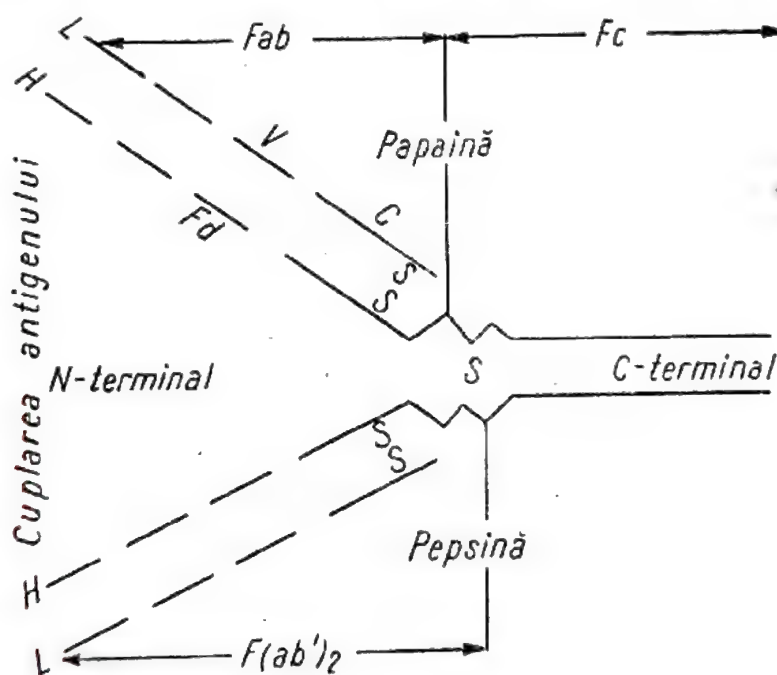


Fig. VIII, 2. — Schema moleculei de IgG cu lanțuri polipeptidice grele (H) și ușoare (L), formată din jumătatea variabilă (V) și cea constantă (C). Produsele scindării cu papaină sunt notate cu Fab, F(ab') și Fc. Punțile disulfidice intercatenare sunt notate cu S—S [după Fleischman, Porter și Press din Wetter O. (39)].

acestor lanțuri răspund gene specifice. Deoarece lanțurile grele și ușoare pot fi de mai multe tipuri (κ și λ pentru lanțurile ușoare și α , γ , δ , ϵ și μ ,

pentru cele grele), prin combinarea lor rezultă 10—16 forme moleculare de imunoglobuline (fig. VIII, 3).

Studiile comparative ale lanțurilor polipeptidice din structura imunoglobulinelor obținute de la mai multe specii arată că, sub aspect filogenetic, lanțurile ușoare (L) apar într-o fază evolutivă foarte timpurie, iar lanțurile grele (H), într-o fază mai târzie. Se presupune că ambele tipuri de lanțuri ar putea proveni dintr-o genă precursoră (fig. VIII, 4). Reiese deci că determinismul genetic al anticorpilor și eterogenitatea lor apare din mecanismul de sinteză, legat de codul genetic și din structura lor chimică.

Un alt argument în favoarea naturii genetice a globulinelor anticorpi este apartenența lor la sistemele ereditare alotipice Gm și Inv ale globulinelor

FORME MOLECULARE ALE IMUNOGLOBULINELOR					
Ig G	Ig A	Ig D	Ig E	Ig M	
$\gamma_2 K_2$	$\alpha_2 K_2$	$\delta_2 K_2$	$\epsilon_2 K_2$	$(\mu_2 K_2)_5$	
$\gamma_2 \lambda_2$	$\alpha_2 \lambda_2$	$\delta_2 \lambda_2$	$\epsilon_2 \lambda_2$	$(\mu_2 \lambda_2)_5$	

Fig. VIII, — 3. După O. Wetter (39).

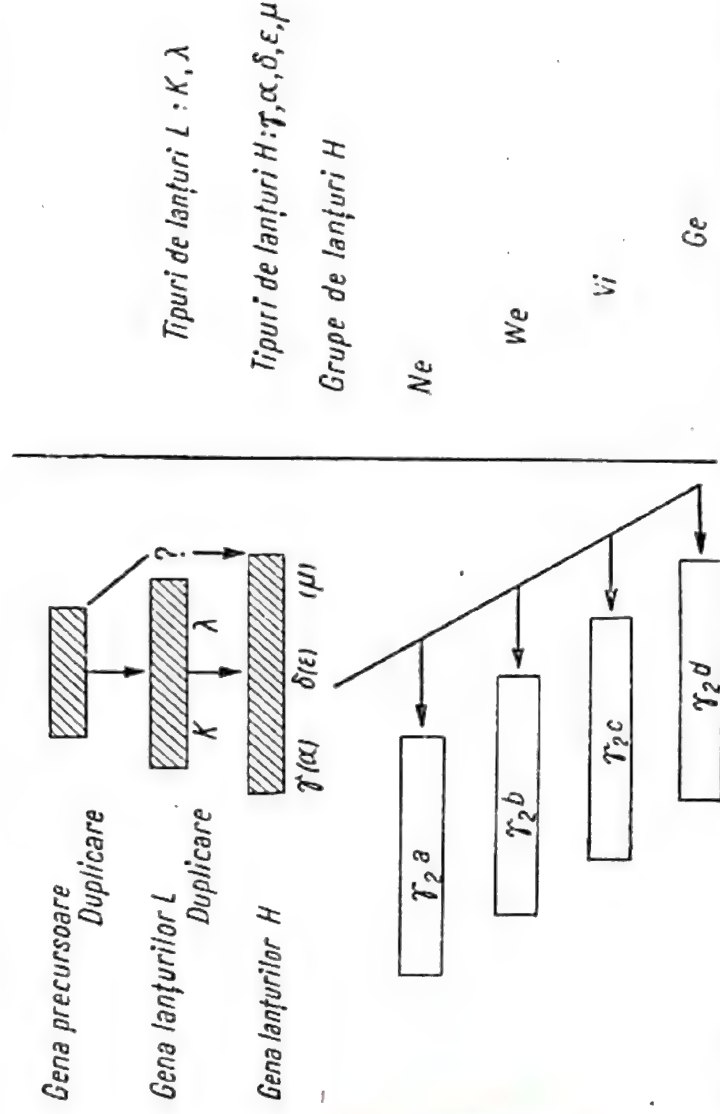


Fig. VIII, 4. — Model de evoluție a genelor imunoglobulinelor provenite, prin duplicare, dintr-o genă precursoră comună. În dreapta sînt reprezentate tipurile corespunzătoare de imunoglobuline [după O. Wetter (39)].

Dacă se ia în considerare diversitatea fenotipică a globulinelor anticorpi după apartenența lor la sistemele Gm și Inv, precum și diversitatea lor în funcție de variatele tipuri de lanțuri grele și ușoare care le compun, se poate

explica polimorfismul structural, genetic determinat al anticorpilor cu aceeași specificitate antigenică.

Faptul demonstrat că o celulă imunologic competentă este capabilă să sintetizeze doar un singur fel de anticorp (26, 29) vine în sprijinul teoriei selecției clonale a lui Burnet, care motivează determinismul genetic al specificității răspunsului imun prin diferențiere și specializare funcțională a celulelor imunologic competente în cursul dezvoltării embrionare a acestora la nivelul timusului. Ca urmare a selecției exclusive a liniilor celulare cu specificitate eterologă se dezvoltă aparatul toleranței imunologice.

Un alt element care atestă natura genetică a răspunsului imun este reglarea dinamică a declanșării și opririi sintezei anticorpilor, concepută după sistemul operonului (24), format din gene structurale, gene operatoare și gene reglatoare, ultimele cu efect represor asupra formării de anticorpi.

Din cele expuse reiese că există numeroase date pentru susținerea determinismului genetic al proceselor imune atât în ceea ce privește structura autoantigenelor, cât și a substratului celular și umoral al imunității, a dinamicii răspunsului imun, precum și a toleranței imunologice.

II. DATE PRIVIND INTERVENȚIA UNUI FACTOR EREDITAR ÎN APARIȚIA BOLILOR AUTOÎNTREȚINUTE IMUNOLOGIC

Baza teoretică a autoimunității este cuprinsă în cunoștințele asupra toleranței imunologice, funcție prin care un organism sănătos este capabil să deosebească ceea ce este propriu de ceea ce este străin.

În mod ipotetic, perturbarea acestui mecanism de autorecunoaștere și transformare a unor procese imunitare normale în procese patologice capabile să producă leziuni caracteristice bolilor autoîntreținute imunologic pot surveni în mai multe împrejurări:

1. În cazul pătrunderii în circulație a așa-ziselor *autoantigene sechestrate*, care determină o stimulare antigenică a clonilor de celule imunologic competente, corespunzătoare structurii lor, cloni care nu au fost distruși sau inhibați prin selecție în cursul dezvoltării embrionare. Este cazul tiroglobulinei, al unor structuri antigenice din cristalin, din spermatozoizi și din mielină.

2. *Alterarea prin factori nocivi a diferitelor structuri antigenice proprii* duce la transformarea acestora în produși care nu mai sînt recunoscuți de celulele aparatului imun și care reacționează împotriva lor printr-un răspuns celular și umoral. Această modalitate de autoimunizare are loc foarte probabil în cazul bolilor autoimune experimentale, cînd antigenul este administrat împreună cu adjuvant Freund, precum și în unele boli autoimune umane (hepatită cronică, rectocolită hemoragică, reumatism cronic primitiv etc.).

3. În cazuri particulare, sensibilizarea unui organism cu antigene străine, care prezintă anumiți determinanți comuni cu antigenele proprii, poate determina apariția de anticorpi *cu specificitate încrucișată*, care vor acționa asupra structurilor normale corespunzătoare și după dispariția agentului sensibilizant. Se descrie o astfel de asemănare între antigenele streptococice și cele provenind

din miocard, între bacteriile gram-negative și antigenele de colon, între virusuri și eritrocit etc.

4. *Pierderea capacității de autorecunoaștere* a structurilor antigenice proprii de către aparatul limfoplasmocitar, prin apariția unor mutații somatice patologice la acest nivel și dezvoltarea unor „cloni interziși” de celule imunologic competente, capabile de o activitate agresivă împotriva antigenelor proprii, reprezintă o altă modalitate de autosensibilizare. Perturbarea aparatului imunitar se discută în toate bolile autoimune și reprezintă elementul principal al unui eventual fond genetic în aceste boli.

Nu poate fi exclusă posibilitatea asocierii mai multor modalități de autoimunitizare într-un caz dat.

Din datele generale prezentate la început a reieșit dependența genetică atât a structurilor antigenice proprii, cât și a sistemului imunologic competent. Acest fapt le acordă o mare stabilitate, atestată de dezvoltarea normală a organismelor umane supuse în permanență influențelor nocive externe. Față de aceste influențe multiple, bolile autoimune au o frecvență redusă. De altfel ar fi greu de imaginat cum anumiți factori negenetici pot influența radical procese genetice fundamentale, cum este acela al autorecunoașterii. Apare deci logică presupunerea că la baza bolilor autoimune ar putea exista o tulburare genetică a funcțiilor umorale și celulare ale aparatului imunitar, tulburare care reprezintă fondul pe care acționează agenții externi.

Din grupul bolilor pentru care se acceptă o patogeneză autoimună fac parte:

— *colagenoze* (lupoeeritematoviscerita, sclerodermia, dermatomiozita, reumatismul cronic primitiv, sindromul Sjögren, periarterita nodoasă);

— *boli endocrine* (tiroidita Hashimoto, unele tireotoxicoze și unele forme de mixedem câștigat al adultului, unele forme de insuficiență corticosuprarenală idiopatică);

— *boli digestive* (hepatita cronică, rectocolita hemoragică, gastropatia biermeriană);

— *boli hematologice* (anemii hemolitice autoimune, purpura trombocitopenice, granulopenii cronice idiopatice, unele eritroblastoze cronice);

— *boli neurologice* (*miastenia gravis*, leuconevraxite, encefalomielite);

— *boli pulmonare* (silicoza).

Pentru natura autoimună a acestor boli pledează argumentele cunoscute de ordin clinic, imunoserologic, histopatologic, terapeutic și experimental. În tabloul morbid al bolilor amintite există însă și unele trăsături comune întregului grup, care ne atrag atenția asupra existenței reale a unui factor ereditar ce intervine în mecanismul lor de producere. Aceste trăsături pot fi rezumate după cum urmează (11):

1. Prezența în sânge a unor substanțe anormale cu activitate de anticorp, îndreptate împotriva unor țesuturi sau organe, împotriva unor constituenți ai nucleului celular sau împotriva unui factor umoral.

2. Apariția simultană sau succesivă la aceeași persoană, a mai multor boli autoimune, asociere frapantă prin însăși raritatea unora dintre ele (tabelul VIII, 1).

TABELUL VIII-1

	Timom	Tireotoxicoză	Mixedem, tiroidită Hashimoto	Anemie Biermer	Artrită reumatoidă	Miastenie	L. E. D.	Sjögren	Ciroză biliară, hepatită lupoidă	Anemie hemolitică	Purpură trombotică	Granulopenie cronică	Eritroblastopenie	P. T. T.	Sclerodermie	Poliomiozită	Hiper-gama	Hipo-gama
Timom sau modificări histologice izolate ale timusului	X																	
Tireotoxicoză		X																
Mixedem, tiroidită Hashimoto			X															
Anemie Biermer				X														
Artrită reumatoidă					X													
Miastenie						X												
L. E. D.							X											
Sindrom Sjögren								X										
Ciroză biliară, hepatită lupoidă									X									
Anemie hemolitică idiopatică cu anti-corpi calzi										X								
Purpură trombopenică idiopatică cronică											X							
Granulopenie cronică idiopatică												X						
Eritroblastopenie cronică													X					
Purpură trombotică trombocitopenică														X				
Sclerodermie															X			
Poliarterită nodoasă																X		
Poliomiozită. Dermatomiozită																	X	
Hipergama-globulinemie																		X
Hipogama-globulinemie																		X

Tabelul VIII, 1. — Tablou sinoptic ce totalizează asocierile de boli autoimune apărute succesiv sau simultan la aceeași persoană și care au fost comunicate în literatură [după B. Dreyfus (11)].

3. Alături de substanțele serice caracteristice suferinței, se întâlnesc deseori anticorpi caracteristici mai multor boli autoimune.

4. Unele dintre bolile acestui grup apar la bolnavi cu tumori de timus.

5. Deseori, mai mulți membri ai aceleiași familii sînt afectați de aceeași boală sau de alte afecțiuni din acest grup.

6. La membrii aparent sănătoși din familia bolnavului se poate constata prezența unor anticorpi identici cu cei descoperiți la bolnav sau factori imunoserici de altă natură.

7. Uneori, singura anomalie umorală constatată la rudele bolnavului este reprezentată de modificarea cantitativă a γ -globulinelor.

8. Observația prelungită a acestor persoane relevă, în mod izolat, apariția bolii corespunzătoare modificărilor serologice.

9. În sfîrșit, unele dintre bolile sau anomaliile serologice amintite preced sau însoțesc evoluția unor tumori ale sistemului limfoid.

Pentru ilustrarea celor expuse ne vom referi la cîteva aspecte reprezentative de boli autoimune, la care participarea unui factor ereditar este relevată de investigații familiale:

1. Într-un studiu amplu, efectuat asupra unui număr de 194 de rude de gradele I și al II-lea, aparținînd la 84 de bolnavi cu suferințe tiroidiene (9, 10) (tiroidită Hashimoto, tiroidită limfocitară, mixedem, boală Basedow) se constată la 52 dintre aceștia semne de afectare a glandei tiroide (tiroidită, ti-reotxicoză, mixedem, gușă).

Din punct de vedere serologic, autorii pun în evidență de asemenea prezența anticorpilor antitiroidieni la 46% față de 15% la martori, a anticorpilor antinucleari la 11% față de 6% la martori și a anticorpilor antigastrici la 20% față de 8% la martori. Prezența ambelor tipuri de factori seroimuni apare la 10% dintre rude față de 2% la martori.

2. Incidența crescută în anumite familii a bolii clinic manifeste, a tulburărilor seroimunologice specifice (anticorpi anti-factor intrinsec, anti-celule parietale) sau a celor nespecifice (anticorpi antitiroidieni, hipergammaglobulinemie), expresie a unei predispoziții genetice, este demonstrată și în cazul *anemiei biermeriene*.

Astfel, o cercetare efectuată la 220 de rude de gradele I și al II-lea, provenind de la 21 de bolnavi cu anemie biermeriană, evidențiază următoarele tulburări (38):

— anticorpi anti-mucoasă gastrică la 20% dintre rude față de 6% la grupurile de control;

— anticorpi antifactor intrinsec numai la 4 persoane din grupul celor cu teste pozitive pentru mucoasă gastrică;

— anticorpi anti-tireoglobulină la 18% dintre rude față de 5% la martori.

Din 20 de persoane care au prezentat anticorpi anti-mucoasă gastrică, la 15 a fost evidențiată o atrofie gastrică, dar numai 4 persoane au manifestat absorbția defectuoasă a vitaminei B_{12} radioactive.

Analiza arborelui genealogic la cîteva familii studiate arată că anticorpii anti-gastrici pot fi întâlniți la mai multe generații (fig. VIII, 5). Există și posibilitatea ca într-o generație intermediară să nu apară nici o tulburare (fig. VIII, 6). Anticorpii anti-gastrici sînt absenți la urmașii fraților seronegativi și

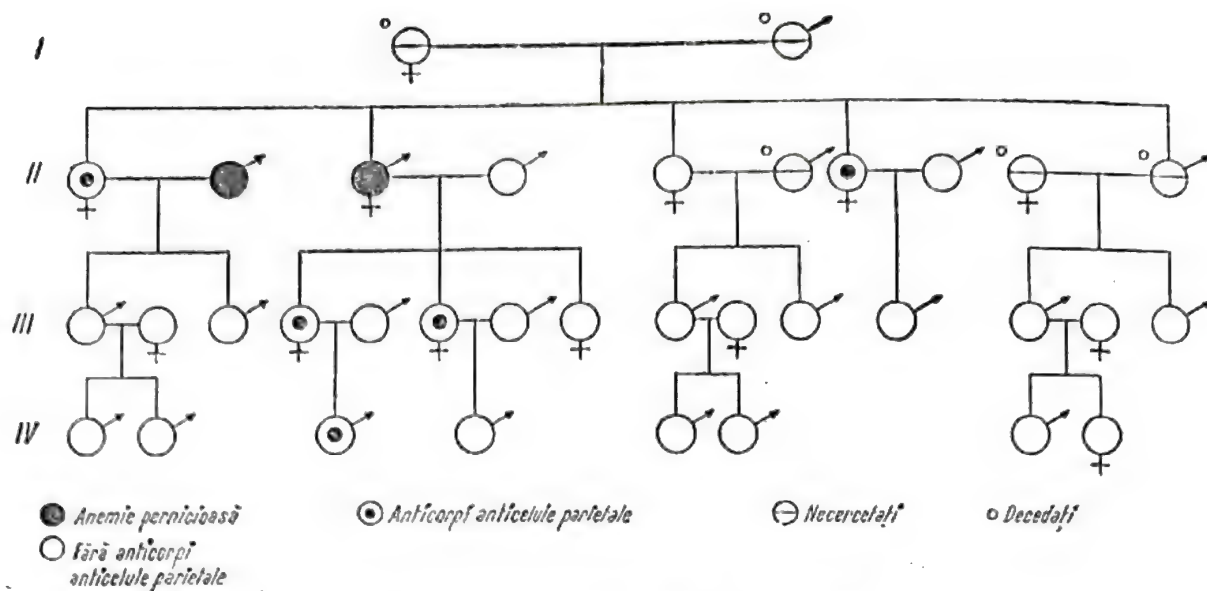


Fig. VIII, 5. — După Velde te K (38).

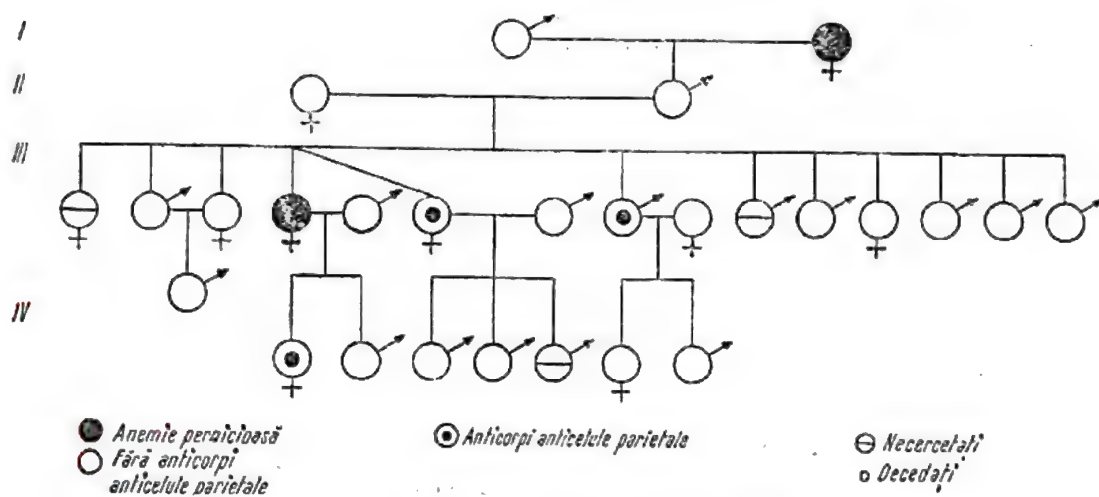


Fig. VIII, 6. — După Velde te K (38).

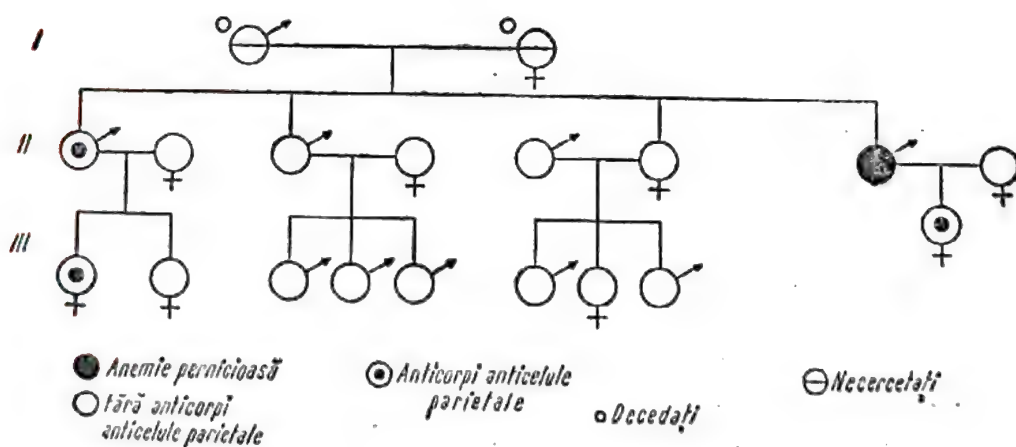
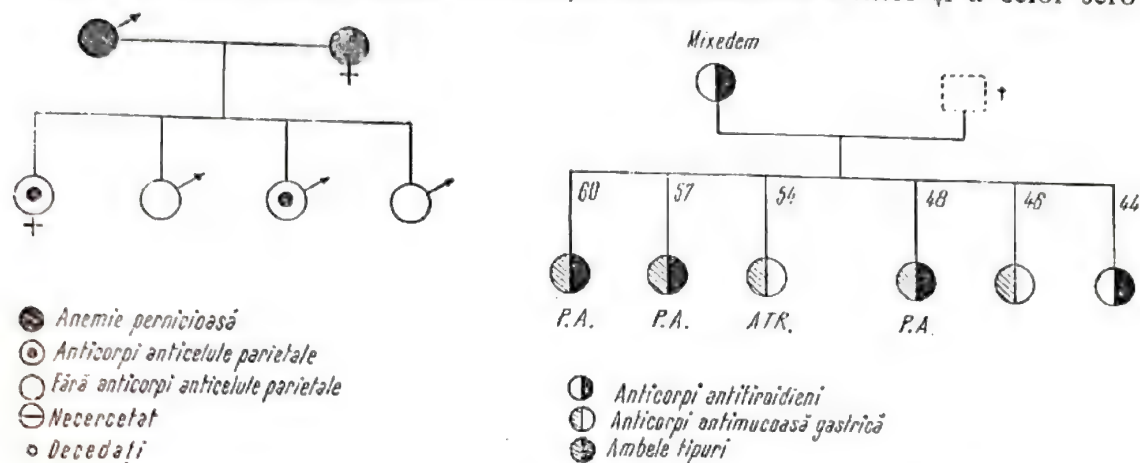


Fig. VIII, 7. — După Velde te K (38).

prezenți la o parte dintre urmașii fraților seropozitivi (fig. VIII, 7). Dacă ambii părinți sînt bolnavi, unii descendenți pot să fie seronegativi (fig. VIII, 8). În sfîrșit, din acest studiu reiese existența mai multor bolnavi în aceeași familie.

Pentru înrudirea patogenetică a celor două boli, tiroidita Hashimoto și gastropatia biermeriană, pledează distribuția manifestărilor alinice și a celor sero-



imunologice caracteristice lor, la membrii aceleiași familii în care s-au întâlnit mai mulți bolnavi cu anemie pernicioasă (10 fig. VIII, 9).

Astfel, din cele 6 surori, 3 prezintă anemie biermeriană și anticorpi anti-mucoasă gastrică și anti-tiroidieni. Două surori prezintă numai anticorpi anti-mucoasă gastrică, iar una numai anticorpi anti-tiroidieni. Mama bolnavelor suferă de mixedem, iar în ser i se constată factorii anti-tiroidieni.

3. În cazul *reumatismului cronic primitiv* există de asemenea date care pledează în favoarea participării unui element genetic la producerea îmbolnăvirii.

Astfel, se constată o anumită relație de frecvență între această suferință a alotipului γ -globulinic Gma, Gmx și Inv₁ (23). Acest fapt concordă cu incidența mai mare a reumatismului cronic primitiv în țările nordice, unde alotipul Gma este mai răspândit. Sînt descrise de asemenea cazuri de îmbolnăvire concomitentă a gemenilor univitelini (40). Studiile familiale demonstrează apariția de 4 ori mai frecventă a cazurilor de reumatism cronic primitiv în familiile bolnavilor decît în cele de control. Numărul rudelor bolnave este mai mare în cazul probanților cu teste serologice pozitive decît în a celor cu teste seronegative. Factorul reumatoid este prezent de 3 ori mai frecvent în familiile bolnavilor decît la grupurile de control. Influența condițiilor de mediu este eliminată prin constatarea că numărul bolnavilor cu reumatism cronic primitiv care au depășit vîrsta de 65 de ani și care provin din familii în care se mai găsește un bolnav este identic cu cel al bolnavilor din populația generală, cu toate că la aceste persoane factorul reumatoid a fost prezent în 38% din cazuri față de 23% la populația generală.

Fenomenul agregării familiale în reumatismul cronic primitiv îl putem ilustra cu două observații proprii, efectuate într-un studiu mai larg (15): în

prima observație este vorba de un bolnav cu reumatism cronic primitiv și cu testele pentru factorul reumatoid pozitive (latex++; Waaler-Rose 1/512). (latex+++; Waaler-Rose 1/1024), o soră cu reumatism cronic pozitiv, dar Un frate al bolnavului suferă de aceeași boală cu testele biologice pozitive cu serologie negativă, mama decedată, cu reumatism cronic primitiv. O fiică prezintă eritem nodos; în cea de a doua observație este vorba de un bolnav

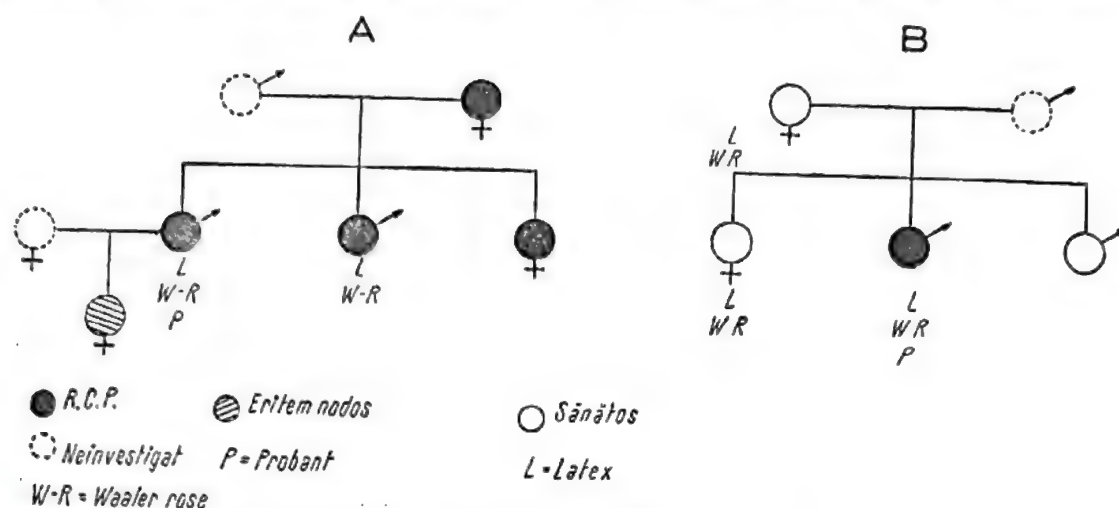


Fig. VIII, 10. — Arborele genealogic aparținând membrilor de familie ai unor bolnavi cu reumatism cronic primitiv.

cu diagnostic clinic și imunoserologic de reumatism cronic primitiv. O soră fără acuze clinice, dar cu factor reumatoid prezent, iar mama fără acuze clinice, dar cu reacțiile pentru evidențierea factorului reumatoid și crioglobuline pozitive. Un frate sănătos (fig. VIII, 10).

4. Cu toate că *lupoeritematoviscerita* este o boală rară, cercetările familiale furnizează și în acest caz argumente valoroase pentru participarea unui factor ereditar.

Ca și în reumatismul cronic primitiv, se semnalează și în lupoeritematoviscerită afectarea concomitentă a gemenilor univitelini (6, 27). Se constată de asemenea prezența semnelor de boală sau modificări biologice la părinții sau urmașii bolnavilor.

Reunirea unor date publicate arată aglomerarea unui număr de 79 de bolnavi cu această suferință în 35 de familii (37). Într-o familie cu 14 copii se constată 3 persoane care prezintă tabloul complet al lupoeritematovisceritei, o persoană cu hipergammaglobulinemie accentuată și alte 4 cu hipergammaglobulinemie mijlocie. La restul membrilor de familie, nivelul mediu al γ -globulinelor serice depășește media grupelor de control.

Studiul arborelui genealogic al familiei unei bolnave cu lupoeritematoviscerită (23) arată că mama și un frate suferă de reumatism cronic primitiv. La 7 membri de familie este prezent factorul reumatoid. La alți 2 membri se constată prezența unor factori serici anti-tisulari cu altă specificitate, iar la 4 persoane o hipergammaglobulinemie (fig. VIII, 11).

Datele obținute din studiul arborelui genealogic următor (23) (fig. VIII, 12) pledează tot în sensul existenței unei predispoziții ereditare care participă

la realizarea bolilor autoimune, precum și pentru înrudirea patogenetică a lupoeritematovisceritei cu reumatismul cronic primitiv. Astfel, tatăl unei femei cu lupoeritematoviscerită a prezentat o creștere marcată a γ -globulinelor se-

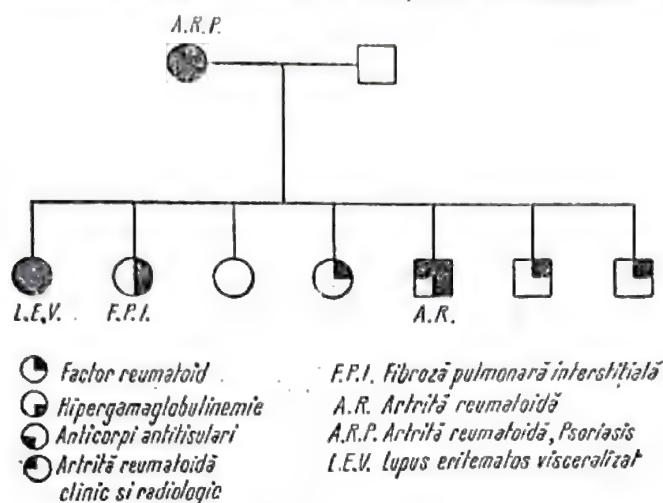


Fig. VIII, 11. — Arborele genealogic al unei bolnave cu lupoeritematoviscerită [după R. H. Holman (23)].

rice care nu este notată în arborele genealogic. O mătușă din partea tatălui suferă de lupoeritematoviscerită, iar cealaltă mătușă din partea tatălui a su-

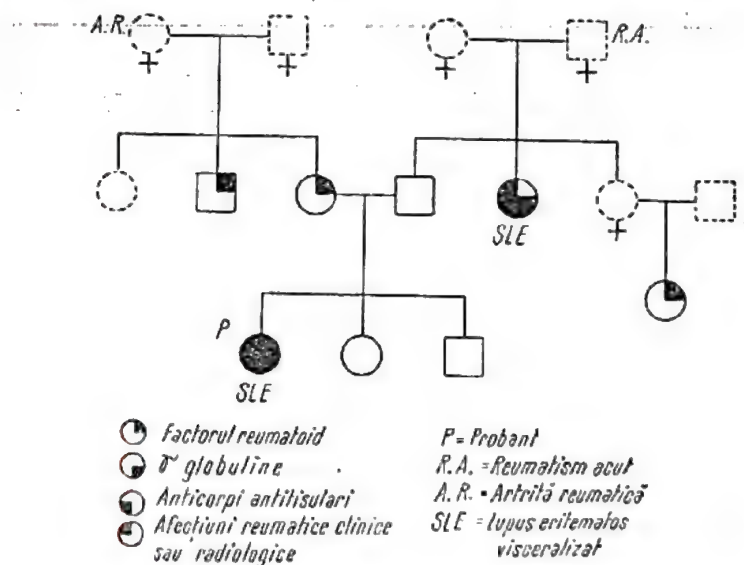


Fig. VIII, 12. — Arborele genealogic al unei bolnave cu lupoeritematoviscerită. Tatăl probantului a prezentat o creștere marcată a γ -globulinelor serice care nu este indicată în arborele genealogic. O mătușă din partea tatălui a avut lupoeritematoviscerită și cealaltă mătușă din partea tatălui a murit cu o inexplicabilă boală renală. Fiica mătușii din partea tatălui s-a considerat că a suferit de lupoeritematoviscerită, dar cu ocazia testărilor nu s-a constatat decât factor reumatoid circulant. Bunicul din partea tatălui s-a presupus că a suferit de o miocardiopatie reumatică. Mama probantului a prezentat parestezii matinale și artralgiile alături de factorul reumatoid circulant. Bunica din partea mamei s-a presupus că a suferit de artrita reumatoidă tipică. Persoanele marcate cu linii întrerupte nu au fost studiate [după R. H. Holman (23)].

combat în urma unei suferințe renale neprecizate. Fiica acestei mătuși din partea tatălui a fost suspectată de lupocritematoză, dar cu ocazia testărilor nu s-a constatat decât factorul reumatoid circulant. Bunicul din partea tatălui s-a presupus că a avut o miocardiopatie reumatismală. Mama probantului a manifestat parestezii matinale și artralgii, alături de factorul reumatoid circulant. Bunica din partea mamei a prezentat semnele unui reumatism cronic primitiv tipic. Persoanele marcate cu linii întrerupte nu au fost studiate serologic.

5. Rolul unui factor ereditar în determinismul *anemiilor hemolitice autoimune* este susținut de numeroase fapte. Semnalăm printre acestea:

— apariția spontană la șoareci a unei anemii hemolitice cu testul Coombs și fenomenul LE pozitive, afecțiune care poate fi transferată unor linii normale de animale prin grefarea timusului prelevat de la animalele bolnave (21);

— asocierea anemiilor hemolitice autoimune cu purpura trombocitopenică, lupocritematoză, reumatism cronic primitiv, tiroidită Hashimoto, hepatită cronică etc. (11);

— apariția bolii la mai mulți membri ai aceleiași familii alături de descoperirea la rudele acestora a unei alte suferințe cu patogeneză autoimună sau, în mod izolat, a factorilor seroimuni corespunzători (11, 12).

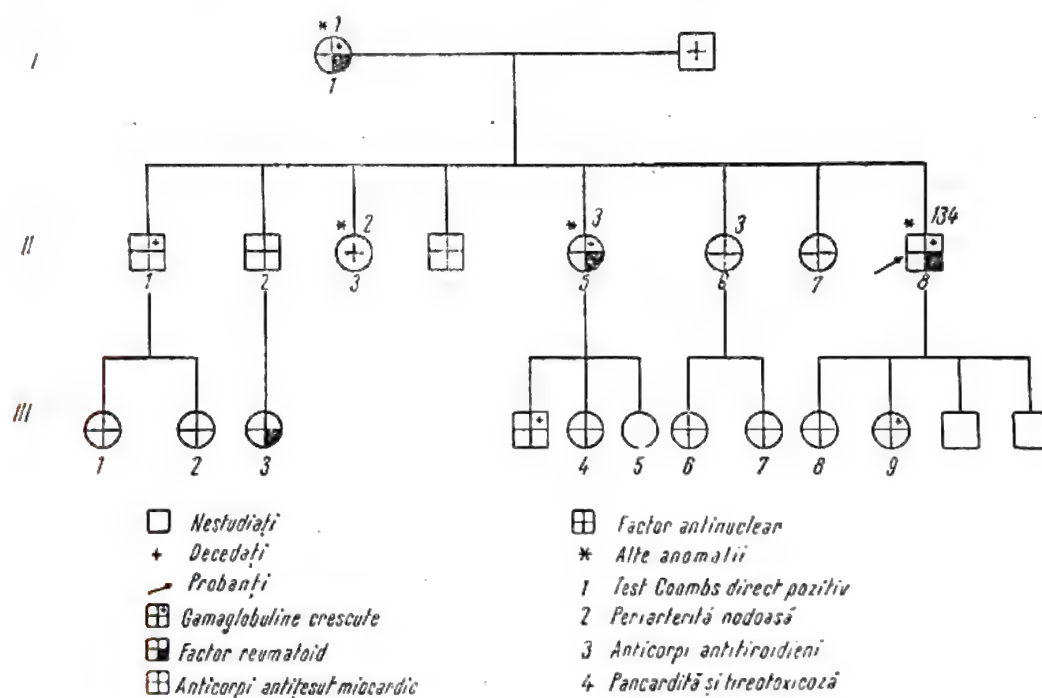


Fig. VIII, 13. — Arbore genealogic ilustrând incidența familială a anomaliilor imunologice în cursul anemiilor hemolitice autoimune [după P. J. Fialkow (14)].

Fenomenul este ilustrat în mod remarcabil de o observație în care mama și fiica suferă de anemie hemolitică cu autoanticorpi, o altă fiică a murit cu periarterită nodoasă, iar din ceilalți 15 membri ai familiei, 4 prezintă hiper-gamaglobulinemie, 3 — factor reumatoid, 4 — anticorpi anti-tiroidieni și 4 — anticorpi antinucleari (fig. VIII, 13).

Am avut și noi în observație (15) o femeie de 25 de ani, cu tabloul clinic complet al bolii și cu teste serologice antieritrocitare pozitive. Pe lângă simptomatologia bolii de bază, sînt prezente acuze articulare care pun problema unei colagenoze maligne cu debut prin anemie hemolitică autoimună. Se constată o hipergammaglobulinemie accentuată și proteine crioprecipitabile. Mama bolnavei suferă de aceeași boală, cu teste imunologice pozitive. În serul acesteia din urmă se constată în plus prezența factorului reumatoid, evidențiat prin testul latex +++ și testul Waaler-Rose 1/128, în absența manifestărilor articulare.

6. În sfîrșit, semnalăm că rezultate similare s-au mai obținut în cercetări efectuate în familiile bolnavilor cu hepatită cronică, agammaglobulinemie, hiperglobulinemie Waldenström etc. (7, 12, 15).

Din studiul nostru (15) putem prezenta 2 observații:

— Prima se referă la 2 surori gemene de 11 ani, una cu diagnosticul de hepatită cronică activă, iar cea de-a doua cu ciroză hepatică. Alte 2 surori prezintă hepatită epidemică în antecedente și a 5-a soră este sănătoasă. Mama bolnavelor și o soră a mamei prezintă icter în antecedente. Tatăl fetițelor este sănătos, dar are un frate cu icter. Acesta din urmă are un copil sănătos și altul cu hepatită cronică.

— Cea de-a 2-a observație se referă la un bolnav cu hepatită cronică activă. Din punct de vedere seroimunologic, acesta prezintă mai mulți factori cu tropism hepatic și extrahepatic. Printre aceștia din urmă, testele de eviden-

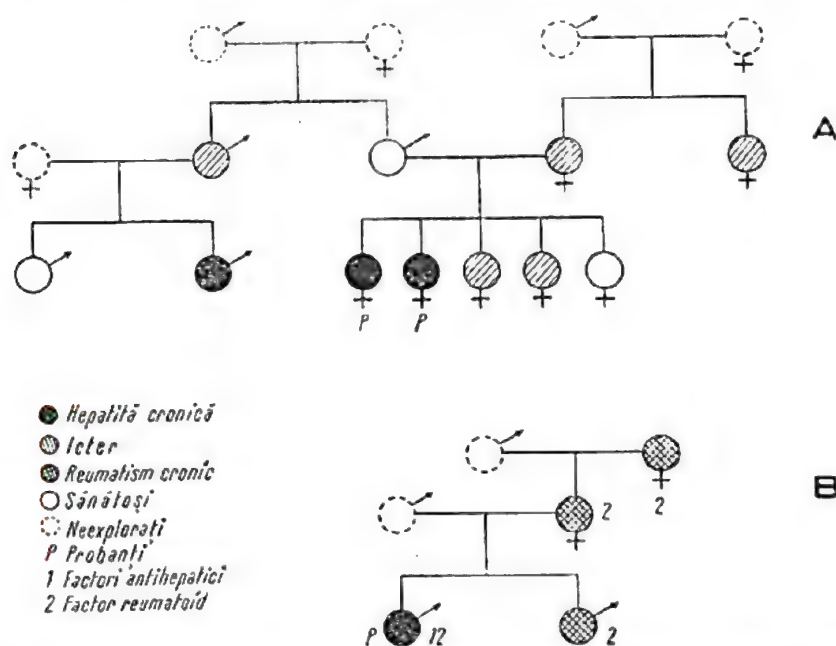


Fig. VIII, 14. -Arbori genealogici ai familiilor unor bolnavi cu hepatită cronică.

țiere a factorului reumatoid apar net pozitive (testul latex +++, reacția Waaler-Rose 1/128). Un frate al bolnavului prezintă reumatism cronic primitiv cu testele pozitive pentru factor reumatoid (latex ++, reacția Waaler-Rose 1/16). Mama bolnavului prezintă semne clinice și seroimunologice de reumatism cronic primitiv. Bunica a decedat cu semnele clinice ale aceleiași boli (fig. VIII, 14).

În rezumat, caracterul familial al bolilor cu patogeneză autoimună poate avea 4 modalități de manifestare:

1. Prin semnele unei boli identice cu cea constatată la probant.
2. Numai prin modificările biologice caracteristice bolii probantului.
3. Prin semnele unei boli diferite, dar care aparține aceluiași grup.
4. Prin anomalii globulinice diferite de cele ce caracterizează boala probantului, dar care aparțin altor boli din același grup.

Cît privește *natura predispoziției ereditare și modul său de transmitere*, în baza datelor existente pînă în prezent, problema nu pare a fi pe deplin elucidată. Asocierea la același bolnav a mai multor boli autoimune sau apariția la membrii aceleiași familii a unor boli autoimune diferite, existența formelor de trecere în două boli cu patogeneză autoimună, alături de polimorfismul anomalilor umorale întîlnite la bolnavi sau la rudele acestora, pledează pentru o perturbare morfofuncțională a sistemului reticulohistiocitar anticorpo- și globulinoformator. Această perturbare are însă un caracter nespecific și permite instalarea unei game largi de modificări patologice.

Pentru fiecare boală în parte este discutată dependența acestei anomalii fie de o singură genă, fie de mai multe (9, 10, 11, 23, 37, 38).

Unii afirmă că tulburarea ar fi generată de o singură genă autozomală (absența susceptibilității legată de sex), dominantă (tulburările apar și la heterozigoți), cu penetranță variabilă pentru diferitele boli. Penetranța și expresivitatea acestei gene patologice ar fi influențată de factori externi sau interni. Realizarea completă a trăsăturilor pleiotropice aflate sub dependența sa este reprezentată de boala clinic manifestă, cu tulburări umorale corespunzătoare. Realizarea incompletă se manifestă prin apariția izolată a diverselor tulburări serologice la rudele bolnavilor.

În baza faptului că tulburările proteinice întîlnite în cursul bolilor autoimune interesează diferite fracțiuni și că structura acestora este dependentă de gene multiple, se susține și ipoteza că perturbarea sistemului imunoformator este o trăsătură patologică care stă sub dependența mai multor gene. Predispoziția ereditară urmează în acest caz legile transmiterii poligenice.

Faptul că cercetările efectuate pînă în prezent nu permit precizarea naturii exacte a tulburărilor care reprezintă elementul ereditar al bolilor autoimune și modul lor de transmitere, demonstrează necesitatea continuării investigațiilor în această direcție.

CONCLUZII

1. Cei doi termeni ai conflictului autoimun (autoantigenul și sistemul imunologic competent) au un determinism genetic.
2. Instalarea bolilor cu patogeneză autoimună este rezultatul modificării structurii autoantigenului sau al perturbării sistemului imun înzestrat cu capacitate de autorecunoaștere.
3. La perturbarea aparatului imunitar participă un factor genetic (anomalie unigenică sau poligenică).

4. Modul de transmitere este cel întâlnit la caracterele legate de gene autosomale dominante, cu penetranță mică.

5. Factorii de mediu pot modifica penetranța și expresivitatea caracterului patologic transmis.

BIBLIOGRAFIE

1. Allison A. C., Blumberg B. S. — *Lancet*, 1961, 1, 634.
2. Auerbach R., Good R. A., Gabrielsen A. E. — Conference on the Thymus, Minneapolis — Minnesota, 1962.
3. Billingham R. E., Silvers W. K. — Transplantation of tissues and cells, Wister Institute, Philadelphia, 1961.
4. Billingham R. E., Brendt I., Medawar P. B. — *Nature (Lond.)*, 1955, 172, 603.
5. Block M. — *Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.*, 1963.
6. Brunjes S., Zike K., Julian R. — *Amer. J. Med.*, 1961, 30, 529.
7. Cavell B., Leonhardt T. — *Acta med. scand.*, 1965, 177, 6, 751.
8. Cohen B. L., Schreffner A. — *Genet. Res.*, 1961, 2, 306.
9. Doniach D., Roitt I. M., Taylor K. B. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1965, 124, 2, 605.
10. Doniach G., Roitt I. M., Taylor K. B. — *Brit. med.*, 1963, 1, 374.
11. Dreyfus B. — *Nouv. Rev. franç. Hemat.*, 1964, 4, 5, 669.
12. Elling P., Ranlov P., Bildsoe P. — *Acta med. scand.*, 1966, 179, 5, 527.
13. Fahey J. L. — *J. Amer. med. Ass.*, 1965, 194, 255.
14. Fialkow P. J., Fudenberg H., Epstein W. V. — *Amer. J. Med.*, 1964, 36, 2, 188.
15. Fodor O., Părău N., Nicoară Gh. — Probleme privind aspectul ereditar al unor boli cu caracter autoimun (sub tipar).
16. Giblett E. R. — The plasma transferins, edit. A. G. Steinberg, A. G. Bearn, Progress in medical genetics, vol. II, Ed. Grune și Stratton, New York — Londra, 1962.
17. Gluecksohn-Waelsch S. — *Amer. J. hum. Genet.*, 1961, 13, 113.
18. Good R. A. — The development of the central and peripheral lymphoid tissue, Ontogenetic and phylogenetic considerations, The Thymus, CIBA Found Symp, Ed. Churchill, Londra, 1966.
19. Grubb R., Laurell A. B. — *Acta path. microbiol. scand.*, 1956, 39, 390.
20. Harris T. N., Harris S. — *Amer. J. Med.*, 1956, 20, 1, 114.
21. Helyer B. J., Howie I. B. — *Brit. J. Haemat.*, 1963, 9, 119.
22. Hirschfeld J., Beckman L. — *Acta genet. (Basel)*, 1960, 10, 48.
23. Holman R. H. — Clinical and immunological evidence for a predisposition to rheumatic disease in certain families, edit. A. G. Steinberg, A. G. Bearn, Progress in Medical Genetics, vol. II, Ed. Grune și Stratton, New York — Londra, 1962.
24. Jacob F., Monod J. — On the regulation of gene activity, *Cold Spri. Harb. Symp. quant. Biol.*, 1961, 26, 193.
25. Kalow W., Gunn D. R. — *Ann. hum. Genet.*, 1959, 23, 239.
26. Lederberg J. — *Science*, 1959, 129, 1 649.
27. Leonhardt T. — *Lancet*, 1957, 7 007, 1 200.
28. Miller J. F. A. P. — *Brit. med. Bull.*, 1963, 19, 3, 214.
29. Nossal G. J. V. — Cellular Genetics of immune response, edit. W. H., Taliaferro, J. H. Humphrey, Advances in Immunology, vol. II, Ed. Academic Press, New York — Londra, 1962.
30. Papermaster B. W., Condie R. M., Good R. A. — *Nature (Lond.)*, 1962, 196, 355.
31. Parker W. C., Bearn A. G. — *Ann. hum. Genet.*, 1961, 25, 227.
32. Race R. R., Sanger R. — Blood Groups in man, Ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1962.
33. Ropartz C. — *Rev. franç. Étud. clin. biol.*, 1960, 5, 933.
34. Snell G. D. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1957, 69, 555.

35. Steinberg A. G. — Progress in the study of genetically determined human gamma globulin types (the Gm and Inv. groups), edit. A. G. Steinberg, A. G. Bearn, Progress In Medical genetics, vol. II, Ed. Grune și Stratton, New York — Londra, 1962.
36. Tomasi T. B. Jr. — *Blood*, 1965, 25, 382.
37. Vasey H. — Arguments en faveur de l'intervention d'un facteur génétique dans la transmission du lupus érythémateux disséminé, Thèse, Faculté de Médecine, Genève, Ed. Expansion, Paris, 1965.
38. Veldete K., Abels J., Anders G. J. P. A., Arends A., Hoedemaeker Ph. J., Nieweg O. — *J. Lab. clin. Med.*, 1964, 64, 2, 177.
39. Wetter O., Schmidt C. G. — *Klin. Wschr.*, 1968, 46, 8, 401.
40. Ziff M., Schmid F. R., Lewis A. J., Tanner M. — *Arthr. and. Rheum.*, 1958, 1, 376.

IMPORTANȚA GENETICEI ÎN PATOLOGIA NEUROLOGICĂ

M. Șerban și M. Morariu

Dezvoltarea actuală de mare amploare a geneticii umane a contribuit, pe de o parte, la adâncirea cunoașterii domeniului particular al patologiei ereditare dar, pe de altă parte, a impus, prin fundamentarea științifică a concepției intuitive despre constituție, reconsiderarea domeniului general al întregii patologii, într-o optică nouă. Genetica umană și-a extins astfel aplicabilitatea în patologie de la parte la întreg și a înlocuit, în descifrarea determinării unui anume proces patologic, concepția existenței sau non-existenței eredității prin aceea a măsurii în care înzestrarea ereditară se alătură factorilor de mediu. Exprimată prin valori statistice semnificative, care arată că la fiecare 10 000 de indivizi apare o boală ereditară specifică și că fiecare al 20-lea individ prezintă o oarecare tulburare de origine genetică (56), optica nouă impusă în patologie de considerabila extindere a obiectului geneticii umane justifică importanța cu totul deosebită a acestuia din urmă.

Dacă la aceste câteva considerații care privesc cadrul integral al patologiei și geneticii umane adăugăm că neurologia, ca domeniu patologic și genetic parțial, cuprinde peste 100 dintr-un număr total de aproximativ 500 de boli ereditare, importanța neurogeneticii nu ne obligă la sublinierea ei.

Este evident că într-un domeniu, ca acela al neurologiei, ale cărui implicații genetice depășesc în amploare orice altă specialitate medicală, încercarea de a cuprinde într-o expunere limitată întreaga patologie ereditară a sistemului nervos ar fi de la început sortită eșecului. De aceea, indiferent de semnificația tematică a titlului, în expunerea noastră, care nu poate și nu pretinde să aibă un caracter exhaustiv, vom dezbate numai aspectele principale ale bolilor neurologice genetice mai importante sau mai interesante, în lumina cunoștințelor actuale.

Avînd în vedere specificitatea patologiei neurologice și contingentele ei minime cu celelalte specialități medicale, am preferat în ordonarea și dezvoltarea materialului, în locul aplicării exemplificate la neurologie a datelor generale de genetică, prezentarea sistematică a celor mai importante afecțiuni ale sistemului nervos cu determinare ereditară. Cu toate acestea, conturarea în general al principalelor aspecte genetice, asupra cărora vom insista în

tratarea separată a fiecăreia dintre bolile neurologice ereditare, cu specificările lor particulare, este necesară. Acestea sînt: diagnosticul și încadrarea nosografică, modul de transmitere, distribuția geografică și incidența, anomaliile cromozomiale și tulburările metabolice ale unor afecțiuni nervoase ereditare și, în sfîrșit, recunoașterea stării de heterozigotism.

PRINCIPALELE ASPECTE GENETICE ALE BOLILOR NEUROLOGICE EREDITARE

1. **Diagnosticul și încadrarea nosografică** a unei afecțiuni nervoase ereditare constituie, în mod firesc, cea mai importantă problemă de neurogenetică. Rezolvarea acesteia nu este însă totdeauna ușoară. Dacă într-un anumit caz se presupune o boală ereditară a sistemului nervos, posibilitățile de a verifica această supoziție sînt în mod obișnuit limitate de memoria deficitară a bolnavului, de tulburările lui psihice sau de cunoașterea superficială a datelor sale familiale. Pe de altă parte, nu rareori există importante dificultăți în încadrarea nosografică a unei afecțiuni neurologice genetice produse fie de apariția fenocopiilor, fie de aceea a genocopiilor. Fenocopiile generează riscul de a atribui în mod eronat unei afecțiuni ereditare simptome cauzate de factorii externi, iar genocopiile realizează condiția în care același fenotip exprimă mai multe genotipuri diferite.

2. **Transmiterea bolilor ereditare neurologice** este extrem de variată. Unele afecțiuni neurologice ereditare se transmit după o singură modalitate (coreea cronică Huntington), altele după modalități multiple (paraliziile spastice spinale familiale, boala Charcot-Marie-Tooth etc.). În general, însă, toate tipurile mari de transmitere ereditară sînt ilustrate de afecțiunile sistemului nervos.

Dar transmiterea bolilor ereditare în general și a afecțiunilor neurologice în special nu permite totdeauna distincția netă între modul dominant pe de o parte și cel recesiv pe de altă parte. În cadrul așa-zisei eredități intermediare, această deosebire tinde să se estompeze. În mod clasic, se susține că genele dominante afectează fenotipul în stare heterozigotă, iar genele recesive se exprimă fenotipic numai în starea homozigotă. B. Pedersen (107) arată însă că unele gene recesive se pot exprima, prin anumite simptome, și în starea heterozigotă. Aceste gene, zise intermediare, ar poseda două grade de exprimare: în doză simplă (stare heterozigotă), cînd se produce un anumit grad de anomalie, cu o transmitere apropiată de modul dominant, și în doză dublă (stare homozigotă), în care anomalia este mult mai exprimată, iar modalitatea de transmitere apare de tip recesiv. Fenilcetonuria, ca afecțiune care se transmite recesiv, poate fi atribuită unei gene intermediare.

Caracterizarea completă a modului de transmitere a unei afecțiuni ereditare mai implică aprecierea gradului de penetranță și expresivitate ca fenomene legate aproape exclusiv de starea de heterozigotism al genelor patologice cu transmitere dominantă.

3. **Distribuția geografică și incidența** bolilor neurologice ereditare constituie aspecte importante în descripția genetică a acestora. În ultimele decenii au fost individualizate boli neurologice genetice, cu o frecvență ridicată în

cadrul unor populații relativ unitare din punct de vedere etnic și pe un teritoriu mai mult sau mai puțin bine delimitat: scleroza laterală amiotrofică din insula Guam, boala Kuru, sindromul Sjögren-Larsson etc. Frecvența genei patologice la populația dată, indicele de mutație a genei considerate și indicele de fertilitate sînt parametri în funcție de care se apreciază incidența unei boli genetice. În general, la o populație dată, factorii menționați mai înainte concură la realizarea unui echilibru genetic. Neurofibromatoza Recklinghausen, caracterizată din acest punct de vedere printr-un indice de mutație ridicat, asociat la o reducere a indicelui de fertilitate, ilustrează o modalitate de realizare a acestui echilibru genetic.

4. Extrem de rar au fost semnalate *aberații cromozomiale* în bolile neurologice ereditare propriu-zise. Anomaliile cromozomiale structurale sau numerice, descrise de unii cercetători în boala Sturge-Weber, distrofia musculară miotonică Steinert, scleroza multiplă, nu au fost confirmate de alți cercetători. În orice caz, pînă la ora actuală nu avem date suficiente de concludente despre originea cromozomială-aberativă a unor afecțiuni neurologice ereditare.

Coborînd însă pe scara dimensiunilor de la eredopatiile cromozomiale pînă la mutațiile punctiforme, eredopatiile metabolice ne permit, în descifrarea mecanismului genetic intim, apropierea de gene. În multe din bolile neurologice ereditare au fost evidențiate „erori înăscute de metabolism” ale unor substanțe enzimatice sau neenzimatice (degenerescența hepatolenticulară, boala Refsum, leucodistrofii, distrofiile musculare progresive), dar în puține din ele tulburările metabolice constatate pot fi cuprinse într-o concepție patogenică unitară și certă. Într-un număr, cel puțin la fel de ridicat, de afecțiuni cu certitudine ereditare ale sistemului nervos, asemenea tulburări metabolice nu au fost încă evidențiate, cu toate că existența lor nu pare îndoielnică. Aceste afecțiuni, deocamdată nedefinite în termeni biochimici, au rămas calificate cu atributele generice de „degenerative” sau „abiotrofice”, care implică mai degrabă o calitate deosebită față de bolile cu o patogenie mai mult sau mai puțin cunoscută decît specificarea vreunui mecanism de producere.

5. În sfîrșit, *recunoașterea stării de heterozigotism* beneficiază de o mare importanță practică, legată de acordarea sfatului genetic; dacă natura defectului metabolic genetic este cunoscută, analiza biochimică poate deseori identifica heterozigotismul ca în: fenilcetonurie, boala Tay-Sachs etc. Uneori sînt necesare examinări de laborator complete: în distrofia musculară pseudohipertrofică Duchenne, ce se transmite după modul X cromozomial recesiv, femeile purtătoare și transmițătoare, dar care nu fac boala, pot fi depistate prin determinarea serică a creatinofosfokinazei, aldolazei și transaminazelor și prin măsurarea timpului de circulație (104). În sfîrșit, în coreea cronică Huntington, înregistrările electromiografice au permis descoperirea unor descărcări bruște intermitente în timpul repausului, la copiii unor părinți bolnavi, în absența oricăror semne clinice (65).

BOLI NEUROLOGICE CU DETERMINISM GENETIC

În descriția separată a celor mai importante afecțiuni ereditare ale sistemului nervos ne vom referi la trăsăturile particulare ale acestor cîtorva aspecte genetice principale, dezbătute în general mai înainte.

Fără a insista asupra dificultății aproape insurmontabile de a elabora o clasificare, în același timp cuprinzătoare și unitară (74, 75), în sistematizarea bolilor neurologice ereditare, ne-am condus după criteriile anatomic, funcțional, clinic și genetic. Considerînd criteriul etiopatogenetic implicat în ereditate, am încercat să transpunem deci, la nivelul nosografic al unui grup sau subgrup de afecțiuni, criteriile care definesc cadrul nosografic al unei singure afecțiuni. Astfel se pot distinge trei grupe mari de boli cu ereditate certă sau incertă și cu implicare nervoasă unică sau asociată:

I. *Eredopatiile displaziante și blastomatoase cu manifestări nervoase* (malformațiile congenitale și facomatozele);

II. *Bolile neurologice propriu-zise cu determinism genetic* (bolile mie-line, credoataxiile, bolile extrapiramidale, bolile piramidale și bolile neuromusculare);

III. *Bolile neurologice cu ereditate incertă* (epilepsia, scleroza în plăci etc.).

Le vom expune în ordine, insistînd asupra afecțiunilor mai importante și mai interesante din punct de vedere genetic.

I. EREDOPATIILE DISPLAZIANTE ȘI BLASTOMATOASE CU MANIFESTĂRI NERVOASE

1. MALFORMAȚIILE CONGENITALE

Ereditatea reprezintă un factor important în etiologia malformațiilor în general, alături de acțiunea teratogenă a agenților externi. Actualitatea și importanța problemei poate fi ilustrată prin discrepanța dintre descreșterea mortalității infantile din Anglia în ultimii 60 de ani (de la 138 decese și 1 000 de nașteri, la 21 decese și 1 000 de nașteri) și numărul deceselor infantile prin malformații congenitale, care a rămas practic neschimbat, în aceeași perioadă de timp (4,3/1 000 în 1901 și 4,1/1 000 în 1961) (112).

Principalele malformații congenitale cu implicare nervoasă, în constituirea cărora se poate incrimina factorul ereditar sînt: anencefalia, microcefalia, hidrocefalia, diverse agenezii ale sistemului nervos (de lobi olfactivi, corp calos, vermis cerebelos, rinencefal), craniostenozele, sindromul Dany-Walker, malformațiile joncțiunii cervicooccipitală, spina bifida,iringomielia.

Cele mai frecvente dintre acestea (anencefalia, microcefalia, spina bifida) par condiționate de participarea unui factor predispozant, dar concordanța insuficientă dintre gemeni, din acest punct de vedere, pledează împotriva unei predispoziții genetice. Viitorul ne va arăta dacă este vorba de o predispoziție monogenică sau poligenică sau dacă fondul genetic multifactorial depășește cadrul unei predispoziții de bază.

Malformațiile joncțiunii cervicooccipitale (platibazia, sindromul Klippel-Feil, sindromul Arnold-Chiari și cu deosebire impresiunea bazilară) se manifestă clinic prin simptome neurologice de tip cerebel-bulbo-medular, care apar din deceniul al 2-lea pînă în deceniul al 5-lea de viață și care deseori ridică dificile probleme de diagnostic diferențial, în special cu scleroza în plăci. Din studierea sistematică a malformațiilor congenitale asociate rezultă că malfor-

mațiile joncțiunii cervicooccipitale apar precoce în timpul dezvoltării embrionare, pînă la sfîrșitul celei de-a II-a luni de viață intrauterină. Într-un studiu recent, clinic, radiologic și genetic (95), se apreciază că impresiunea bazilară poate fi produsă prin mutații în genele cromozomilor autozomali și că ea recunoaște un mod de transmitere dominant, cu penetranță redusă.

Asocierea mai multor malformații nervoase de tipul sindromului Dany-Walker, Arnold-Chiari și siringomieliei pledează, după P. Tridon (139), pentru teoria patogenică a statusului disrafic.

2. FACOMATOZELE

Sînt displazii congenitale cu manifestări multiple nervoase, cutanate și viscerale. Caracterul ereditar al acestora apare deseori în mod indiscutabil net, iar transmiterea lor este autozomală dominantă. În general se pot distinge două mari grupe de facomatoze: facomatoze cu predominanță neuroglioblastică și facomatoze cu predominanță angioblastică (75): din prima grupă fac parte neurofibromatoza Recklinghausen, scleroza tuberoasă, gliomatozele și glioblastomatozele familiale, iar din a doua grupă fac parte angiomatoza encefalotrigeminală sau boala Sturge-Weber, angiomatoza retino-cerebelo-medulară sau boala von Hippel-Lindau și angiomatoza facio-retino-talamo-diencefalică sau boala Dechaumme-Bonnet-Blanc.

a) **Neurofibromatoza Recklinghausen**, ca tip de facomatoză neuroglioblastică, se caracterizează din punct de vedere clinic prin simptome cutanate (pete pigmentare și tumori cutanate), manifestări nervoase, care atestă afectarea sistemului nervos periferic și central, inclusiv tulburări vizuale, prin interesarea nervului optic, modificări osoase (cifoscolioză, modificări de talie etc.) și simptome viscerale. Marea diversitate de manifestare clinică a acestei afecțiuni corespunde unui substrat morfolezional de o natură și topografie variată, a cărui constituire, insuficient descifrată, se explică în general printr-un mecanism polidisplazic. Substratul morfologic și patologic al bolii Recklinghausen este însă dominat în special de prezența unor tumori, de tipul neurofibroamelor, cu sedii diferite pe traiectul rădăcinilor și nervilor periferici (rahidieni și cranieni), și de tipul gliomelor (glioblastoame, oligodendrogliome), cu localizări variate în sistemul nervos central (intramedulare, cerebrale, optochiasmatic). Dezvoltarea neurofibroamelor se atribuie unei tulburări în procesul de migrare și repartiție a celulelor Schwann primordiale în sistemul nervos periferic, iar aceea a gliomelor, unui mecanism asemănător, raportat la celulele gliale, în sistemul nervos central.

Factorii determinanți ai bolii Recklinghausen fie genetici, fie dobîndiți, trebuie să acționeze foarte timpuriu în decursul embriogenezei, în orice caz înainte de prima lună a vieții embrionare. Transmiterea acestei afecțiuni este de tip autozomal dominant, cu o penetranță ridicată. În unele familii s-a putut urmări boala de-a lungul a 5—6 generații. O importantă caracteristică a bolii este marea ei variabilitate intra- și interfamilială. Fertilitatea bolnavilor este extrem de scăzută: din 466 de cazuri publicate în literatură pînă în 1965, care au ajuns la o vîrstă mai înaintată, numai 15% au avut urmași (80). Rata

de mutație stabilită de F. W. Crowe, W. J. Schull și J. V. Neel (32) este de 1×10^{-4} pe gamet și generație, până în prezent cea mai ridicată din genetica umană pentru o afecțiune cu mod de transmitere dominant.

b) Spre deosebire de boala Recklinghausen, facomatoză cu predominantă neuroglioblastică, **angiomatoza encefalo-trigeminală** sau **boala Sturge-Weber** reprezintă un tip de facomatoză cu predominantă angioblastică. În forma sa completă, boala cuprinde asocierea dintre un nev vascular al feței, glaucom congenital și o angiomatoză a creierului de aceeași parte, cu depunere de calciu. Clinic, leziunea cerebrală se manifestă prin orize de epilepsie jacksoniană sau generalizate, hemipareză, hemianopsie, oprire în dezvoltarea intelectuală, nevralgie trigeminală etc. (8). Din punct de vedere genetic, boala Sturge-Weber s-ar datori unei gene cu penetranță redusă, a cărei manifestare fenotipică ar depinde în același timp de genele vecine și de factorii peristatici. Modul de transmitere a acestei afecțiuni este neregulat dominant autozomal. În angiomatoza encefalotrigeminală au fost descrise anomalii cromozomiale. M. D. Haiward și B. D. Bower (69) evidențiază o trizomie 22, T. Y. Dent și colab. (40) constată un cromozom Y complementar și, în sfârșit, K. Pătau și colab. (105) descriu translocarea inconstantă a unui segment cromozomial pe cromozomii din grupa D.

II. BOLILE NEUROLOGICE PROPRIU-ZISE CU DETERMINISM GENETIC

A. BOLILE MIELINEI

În general se face distincția între două tipuri principale de demielinizare: demielinizarea secundară și demielinizarea primară. Demielinizarea secundară (123) se caracterizează prin degenerarea concomitentă a prelungirii cilindrică și a tecii de mielină care o înconjoară. În demielinizarea primară, teaca de mielină este afectată în mod specific, în timp ce prelungirea axonică rămâne mai mult sau mai puțin indemnă. Acest ultim tip de demielinizare definește leziunea care a fost denumită de Charcot disociație mielinoaxonală (29). Demielinizarea secundară face parte integrantă din procesul de degenerescență walleriană și este consecința secțiunii, compresiunii unui trunchi nervos periferic sau a unei intoxicații neuronale (1). Demielinizarea primară reprezintă leziunea fundamentală care caracterizează în general cadrul larg și eterogen al bolilor mielinei sau bolilor demielinizante. Precizarea că termenul de demielinizare primară are un sens strict anatomic, definind în mod simplu absența colorației pentru mielină, și nici o semnificație patogenică, este îndeosebi necesară pentru a corecta definirea nosografică a bolilor demielinizante genetice.

Din grupa bolilor demielinizante genetice, după B. H. Landing și D. G. Freeman (85), C. M. Poser (110), fac parte leucodistrofiile și lipoidozele cerebrale. Afecțiuni ereditare și dismetabolice (142), în care defecte enzimatice determinate genetic ar produce degenerarea tecii de mielină, printr-un mecanism care interesează fie anabolismul, fie catabolismul substanțelor de constituție ale

acesteia, leucodistrofiile și lipidozele cerebrale se manifestă clinic printr-o simptomatologie condiționată mai degrabă de extinderea procesului de demielinizare decât de natura acestuia. În ordinea apariției, principalele simptome clinice ale acestor afecțiuni sînt următoarele: deficit motor cu spasticitatea membrelor inferioare, ataxie, tulburări de vorbire, caracteriale, psihice. Deficitul motor se poate extinde și la membrele superioare, realizînd tabloul unei veritabile tetraplegii. Se adaugă crize epileptice și în unele cazuri un sindrom de hipertensiune intracraniană.

În raport de unele modificări histopatologice și histochimice particulare, care însoțesc procesul de degenerescență mielinică, au fost descrise mai multe forme de leucodistrofii și lipidoze cerebrale. Leucodistrofiile cuprind: leucodistrofia metacromatică (Greenfield), leucodistrofia metacromatică cu celulele globoide (Krabbe), leucodistrofia ortocromatică și/sau boala Pelizaeus-Merzbacher. Lipidozele cerebrale sînt reprezentate prin: idiozia amaurotică (forma infantilă Tay-Sachs, forma infantilă tardivă Bielschowsky-Batten, forma juvenilă Spielmeyer și forma adultă Kufs), boala Niemann-Pick și boala Pfaundler-Hurler.

1. LEUCODISTROFIILE

— Leucodistrofia metacromatică de tip Greenfield apare în general la copii, în jurul vârstei de 1—2 ani, și se manifestă clinic printr-o paraplegie sau tetraplegie cu semne piramidale, la care se adaugă tulburări atactice, simptome de deteriorare mintală, afazie, cecitate, tulburări respiratorii și de deglutiție și, în ultima instanță, rigiditate decerebrată generalizată. Copilul moare în general la vârsta de 3—6 ani (68). Din punct de vedere biologic, două teste urinare sînt utile pentru diagnostic: punerea în evidență a granulațiilor metacromatice la examenul microscopic al sedimentelor și analiza chimică directă a sulfatidelor, care se găsesc în urină într-o cantitate mare. Din punct de vedere anatomic, caracteristicile bolii sînt reprezentate prin asocierea leziunilor degenerative și difuze ale substanței albe cu acumularea abundentă a unui produs lipidic nesudanofil, mai ales în substanța albă, dar și în corpii neuronali, nervii periferici și unele viscere (ficat, rinichi, vezica biliară). Acest produs lipidic, care dă o tentă metacromatică cu coloranții bazici de anilină este o sulfatidă, identificată de H. Jatzkewitz (76). Tulburarea metabolică care antrenează supraîncărcarea specifică din leucodistrofia metacromatică de tip Greenfield pare să fie o diminuare în dezintegrarea normală a cerebrozidelor. Plecînd de aici, s-ar forma deci o cantitate excesivă de sulfatide. Dar mecanismul enzimatic al cerebrozidelor nu este încă cunoscut (135). Ca mod de transmitere predomină cel autozomal recesiv.

— Leucodistrofia metacromatică cu celule globoide de tip Krabbe debutează în copilărie sau adolescență printr-o tetraplegie lentă, progresivă, însoțită de o stare de demență și atrofie optică. Din punct de vedere anatomic, boala se caracterizează prin alterații difuze ale mielinei, în care se constată prezența unor structuri multinucleate neobișnuite, formate din celule globulare, a căror compoziție chimică este vecină cu aceea a glicolipidelor. Compoziția chimicopatologică specifică a acestor celule nu a fost încă identificată (7). Însăși natura celulelor menționate este discutată. Absența fibrelor gliale și

prezența fosfatazei acide în aceste celule sugerează însă originea lor mezodermală (100). Boala se transmite după modul autozomal recesiv.

— Leucodistrofia ortocromatică sudanofilă, considerată de unii deosebită, iar de alții identică cu boala Pelizaeus-Merzbacher, ar reprezenta forma cronică a leucodistrofiei metacromatice (47, 101, 138). În orice caz, această afecțiune se transmite după un mod autozomal recesiv, diferit de modalitatea de transmitere a bolii Pelizaeus-Merzbacher.

— Boala Pelizaeus-Merzbacher este reprezentată prin trei tipuri clinice principale: tipul comun descris de F. Pelizaeus și L. Merzbacher, cu debut precoce și evoluție îndelungată; tipul Seitelberger, cu debut în copilărie și evoluție rapidă; tipul adult Lowenberg-Hill. Toate se caracterizează din punct de vedere anatomic prin arii întinse de demielinizare, cu conservarea relativă a integrității prelungirilor cilindrice (124, 102) și prezența unor produși lipidici sudanofili — esterii de colesterol (1).

Genetic, familia descrisă de F. Pelizaeus (109) și L. Merzbacher (93), la care boala a debutat precoce și a avut o evoluție prelungită (peste 50 de ani), cuprinde 14 membri (12 bărbați și 2 femei), afectați în 4 generații. Pedigriul acestei familii relevă o transmitere X cromozomială recesivă, gena anormală găsindu-se la sexul feminin în stare heterozigotă. Tipul adult al acestei afecțiuni are o transmitere dominantă. Această leucodistrofie apare deci eterogenă din punct de vedere genetic, cu cel puțin două moduri de transmitere și cu o mare variabilitate interfamilială, dar cu asemănări intrafamiliale.

2. LIPOIDOZELE CEREBRALE

— **Idioția amaurotică** este o teaurismoză, cu un material foarte probabil ganglioizidic, a sistemului nervos central (41, 42). În raport de debutul bolii și unele simptome în principal oftalmologice au fost deosebite trei tipuri clinice de idioție amaurotică: forma infantilă (Tay-Sachs) cu „pată roșie maculară“, forma juvenilă (Bielschowsky-Batten-Spielmeyer) cu corioritită pigmentară și cu sau fără atrofie optică și forma adultă (Kufs), în care semnele oftalmologice pot să lipsească. În forma infantilă, pe lângă simptomatologia clinică, ale cărei trăsături principale sînt indicate de denumirea bolii, se mai constată și importante modificări de laborator cu valoare diagnostică: leucocite vacuolizate (131), imidazolaminoacidurie (19) și deficit seric de fructozofosfaldolază (6). Determinarea acestei enzime servește și pentru identificarea biochimică a heterozigoților de boală Tay-Sachs. În forma juvenilă, starea de heterozigotism poate fi indicată în 1—4% din cazuri de prezența limfocitelor vacuolizate. În toate formele de idioție amaurotică, transmiterea bolii se face după modul autozomal recesiv, iar consanguinitatea părinților este frecventă.

— **Boala Niemann-Pick** este o teaurismoză cu fosfatide (sfingomielină). Transmiterea bolii este recesiv autozomală.

— În sfîrșit, boala **Pfaundler-Hurler** sau **gargoilismul** este o mucopolizaharoidoză, în care defectul genetic constă probabil din absența unei enzime care catabolizează un ganglioizid. Gargoilismul este însă eterogen atît

din punct de vedere biochimic, cât și genetic. Din punct de vedere genetic se poate distinge un grup de bolnavi care reprezintă aproximativ o treime din cazurile de boală, la care aceasta se transmite după modalitatea X cromozomială recesivă și un alt grup, format din restul de bolnavi, la care gargoilismul are o transmitere autozomală recesivă. Ținând seama îndeosebi de datele de morfopatologie și histochimie care caracterizează leucodistrofiile și lipidozele cerebrale, încadrarea acestora în grupa bolilor demielinizante este discutabilă. Leucodistrofia metacromatică și idiozia amaurotică sînt dificil de cuprins în cadrul bolilor demielinizante primare, deoarece ele se caracterizează prin leziuni concomitente ale tecilor de mielină și prelungirilor axonice, ca în demielinizările secundare. Pe de altă parte, în leucodistrofia metacromatică și diferitele lipidoze cerebrale, dezintegrarea mielinei nu duce la apariția esterilor de colesterol, caracteristici atît leziunilor demielinizante primare, cât și celor secundare. De aceea, C. W. M. Adams (1) consideră că în aceste afecțiuni, dezorganizarea mielinei este datorită mai degrabă unui proces de „dismielinizare” (sinteză defectuoasă), decît unui proces de mielinoclazie (dismielinizare primară sau secundară).

Spre deosebire de leucodistrofia metacromatică și lipidozele cerebrale, leucodistrofia sudanofilă, boala Pelizaeus-Merzbacher se caracterizează prin conservarea prelungirilor cilindrice în ariile demielinizante și prin prezența esterilor de colesterol în substanța albă lezată. De aceea, aceste afecțiuni pot fi considerate ca veritabile boli demielinizante (1).

B. EREDOATAXIILE SAU DEGENERESCENTELE SPINOCEREBELOASE

Fac parte, împreună cu bolile genetice extrapiramidale, piramidale și neuromusculare, pe care le vom trata mai departe, din grupa mare a eredoataxiilor degenerative abiotrofice. Deoarece, pînă în zilele noastre, în majoritatea bolilor din grupa menționată nu au fost încă evidențiate modificări semnificative ale vreunor substanțe enzimatică sau neenzimatică, care să ne explice patogenia acestor afecțiuni, ele sînt deocamdată atribuite unui mecanism nespecific abiotrofic. Acest mecanism condiționează dezvoltarea lentă și de lungă durată a unor procese degenerative și atrofiante, care interesează corpul neuronal și prelungirile lor și care duc, în ultimă instanță, la înlocuirea substanței nervoase nobile printr-un țesut de proliferare nevrogliă. În eredoataxiile, mecanismul abiotrofic produce leziuni atrofici și degenerative ale căilor sensibilității proprioceptive (fasciculele Goll, Burdach și fasciculele spinocerebeloase), ale fasciculelor piramidale și ale celulelor nervoase din scoarța cerebelului. Acest substrat anatomic își găsește corespondentul în clinică printr-o simptomatologie variată și complexă, dominată de ataxia cerebeloasă.

În grupa mare a eredoataxiilor au fost descrise peste 20 de afecțiuni sau tipuri morbide genetice, nu totdeauna suficient de bine individualizate: eredoataxia spinală sau boala Friedreich, eredoataxia cerebeloasă sau boala Pierre-Marie, distazia areflexică ereditară Roussy-Lévy, eredoataxia cu hipogonadism, cu degenerarea retinei și eunucoidism, cu retinită pigmentară, eredoataxia cu transmitere X cromozomială recesivă, atrofiile cerebeloase, sindromul Mari-

nescu-Sjögren, sindromul Louis-Bar, eredoopia atactică polinevritiformă sau boala Refsum, sindromul Bassen-Kornzweig sau abetalipoproteinemia, boala Kuru.

Adâncirea cercetărilor de genetică, în decursul anilor, a impus, însă, de pe o poziție rațională, revizuirea individualizării acestor variate tipuri de eredoataxii, demonstrând fie eterogenitatea unor forme clinice, considerate la început unitare, fie, dimpotrivă, unicitatea altor forme, inițial deosebite.

a) N. Friedreich (59) a descris mai întâi, în 1863, ataxia ereditară cu transmitere autozomală recesivă, pentru ca, după 3 decenii Pierre-Marie (88) să separe de aceasta *eredoataxia cerebeloasă*, care se deosebește de prima în special prin modul de transmitere autozomal dominant. Dacă aplicarea criteriului genetic nu întâmpină nici o dificultate în separarea bolii Friedreich, de boala Pierre-Marie, individualizarea genetică a celorlalte tipuri de eredoataxii, descrise după aceea, nu este totdeauna ușoară. În unele forme de eredoataxie nu s-a putut încă stabili dacă este vorba de un tip genetic deja cunoscut sau este un tip genetic nou, de sine stătător, care are la bază o altă genă. Astfel, ataxia cerebeloasă cu cataractă și oligofrenie, izolată de G. Marinescu, S. Drăgănescu și D. Vasiliu (89) și confirmată de T. Sjögren (129), poate apărea din punct de vedere genetic ca un tip nou, de sine stătător, deși are același mod de transmitere (recesiv autozomal) cu boala Friedreich, tip genetic mai înainte individualizat, de care se deosebește, în fond, numai prin prezența cataractei. De asemenea, combinația dintre boala Friedreich și degenerescența pigmentară a retinei justifică opinia unei manifestări fenotipice particulare ale uneia și aceleiași gene. Cât despre distazia areflexică ereditară Roussy-Lévy, studiile catamnestice, care indică o mare asemănare clinică cu boala Friedreich, susțin ipoteza înrudirii genetice a acestora prin alelia genelor care determină boala Friedreich, respectiv distazia areflexică Roussy-Lévy.

În cele mai importante și bine individualizate boli, care evoluează cu ataxie, boala Friedreich și boala Pierre-Marie, ca și în alte forme de eredoataxii, defectul metabolic genetic nu se cunoaște încă. Lăsând de o parte eredoopia atactică polinevritiformă sau boala Refsum, în care au fost evidențiate unele tulburări metabolice, deocamdată insuficient precizate, singura eredoataxie cu tulburări metabolice cert demonstrate este sindromul Bassen-Kornzweig sau abetalipoproteinemia.

b) Sindromul Bassen-Kornzweig sau abetalipoproteinemia debutează în primul an de viață, cu steatoree. Apar apoi fenomene atactice, cu nesiguranță în mers și în mișcările fine ale membrilor superioare, tulburări de sensibilitate profundă în extremitățile distale ale membrilor inferioare, la care se mai pot adăuga degenerarea retinei și anomalii ale coloanei vertebrale. Biochimic se constată o scădere a colesterolului seric și a β -lipoproteinelor, iar examenul hematologic evidențiază modificări caracteristice ale hematiilor, care constau în excrescențe și neregularități de contur. Aceste hematii modificate au fost numite acantocite, de unde termenul acantocitoză, uneori utilizat pentru denumirea bolii. Studiul genetic a arătat la părinți un important procent de consanguinitate, care concordă cu ipoteza că boala este determinată de o genă recesivă rară. H. B. Salt și colab. (119) sînt de părere că principala acțiune

a genei anormale, în stare heterozigotă, constă din incapacitatea ei de a forma lipoproteine. Pentru opinia menționată pledează constatarea că, în această afecțiune, partea proteică a lipoproteinelor lipsește sau că în orice caz ea și-a pierdut funcția de a se lega cu lipidele, adică specificitatea antigenică. Globulele roșii, la început normale, își modifică apoi structura membranei lor lipidice, ca urmare a conținutului anormal al plasmei și iau o formă neregulată, caracteristică.

c) **Eredopatia atactică polinevritiformă sau boala Refsum** este o afecțiune rară (în jur de 40 de cazuri publicate în literatură), caracterizată prin simptome de polinevrită cronică, care evoluează în puseuri, cu remisiuni ocazionale, ataxie cu semne cerebeloase, anomalii pupilare, surditate, ihtioză congenitală, retinită pigmentară atipică cu strîmtoarea concentrică a câmpului vizual și disociație albuminocitologică în lichidul cefalorahidian. Boala apare începînd din primul pînă în al IV-lea deceniu de viață. În boala Refsum, examinările biochimice au arătat un conținut mediu ridicat de acizi grași totali în sînge, iar în urină prezenta grăsimilor neutre. Recent, aplicarea metodei cromatografiei gazoase la analiza chimică a lipidelor din urină, ficat, mușchi și țesutul gras al bolnavilor cu eredopatie atactică polinevritiformă, a permis demonstrarea unei acumulări de acid 3,7,15-tetrametilhexadecanoic (77). Sînt în general afectați mai mulți membri dintr-o familie cu părinți sănătoși, ceea ce indică o transmitere legată de o genă recesivă rară. O ușoară creștere a cuprului seric, a ceruloplasminei, a acidului 3,7,11,15-tetrametilhexadecanoic pot să indice uneori starea de heterozigotism (99).

d) În sfîrșit, o ultimă afecțiune din grupa eredoataxiilor este **boala Kuru**. Este o afecțiune, descrisă pentru prima dată în 1957, la populația Fore, în partea de est a insulei Noua Guinee, care se manifestă clinic prin ataxie, mișcări involuntare și printr-o evoluție progresiv agravantă (62). Curba vîrstei de îmbolnăvire indică un vîrf în copilărie (ambele sexe fiind egal interesate) și un al doilea vîrf în jurul vîrstei de 30 de ani (dar numai de cazurile feminine). Ipotezei genetice că boala s-ar datori unei gene autozomale care se comportă dominant în cazul sexului feminin și recesiv în cazul sexului masculin (17) i se opun astăzi o serie de fapte care pledează împotriva eredității și susțin intervenția unor factori de mediu (virolici?) (26).

C. BOLILE EXTRAPIRAMIDALE

Bolile extrapiramidale cu determinism genetic sînt reprezentate prin: boala Parkinson, tremorul esențial, coreea cronică Huntington, hemibalismul, spasmul de torsiune, boala Hallervorden Spatz, boala Fahr și degenerescența hepatolenticulară.

a) **Boala Parkinson** este indiscutabil cea mai frecventă și comună afecțiune extrapiramidală. Frecvența bolii în Suedia este de aproximativ 65/100 000 (21), iar în Statele Unite de 114/100 000 (83). Din studierea mai multor pedigriuri izolate, cu aproximativ 10 membri afectați în 3 sau 4 generații rezultă că transmiterea dominantă nu este rară, spre deosebire de celelalte modalități de transmitere ereditară. Transmiterea dominantă, cu manifestări fenotipice la aproximativ 25% din purtătorii genei patologice, poate oferi o explicație plauzibilă a formelor familiale de boală Parkinson, cu toate că debutul precoce

al bolii în unele familii sugerează eterogenitatea ei. Variabilitatea intrafamilială a bolii Parkinson este foarte mare, realizând toate posibilitățile ei de manifestare fenotipică, de la forme ușoare de tremor până la tabloul clinic grav de „paralizie agitantă”. Ca factori patogenici care pot influența felul, gradul și severitatea manifestărilor clinice trebuie să se aibă în vedere tulburările hormonale, intoxicațiile cronice, hipertensiunea arterială și ateroscleroza. Recent, s-a incriminat în mecanismul de producere a bolii Parkinson un defect în metabolismul catecolaminelor. Dioxifenilalanina, serotonina și norepinefrina sînt distribuite variat în diferite regiuni ale sistemului nervos central (18). Corpii striati, nucleul roșu și *locus niger*, care reprezintă sediile lezionale principale ale bolii Parkinson, conțin în condiții normale, numai dioxifenilalanină și aproape de loc norepinefrină. Rezultatele unor cercetări recente (10, 48), care demonstrează scăderea eliminării prin urină și reducerea concentrației dioxifenilalaninei în nucleii extrapiramidali, menționați mai înainte, în boala Parkinson, sugerează intervenția acestei substanțe în mecanismul de producere a afecțiunii. Producția de dioxifenilalanină sau a unui alt precursor de norepinefrină, la nivelul nucleilor extrapiramidali, în boala Parkinson, ar putea fi blocată, printr-un defect enzimatic încă necunoscut.

b) **Coreea cronică Huntington** este o afecțiune extrapiramidală, care suscită interesul atît prin frecvența sa, cît și prin numărul record de pedigriuri cu transmitere regulat dominantă. Descrisă încă din 1872, de G. Huntington (72), această boală afectează în mod regulat generații succesive, în cadrul cărora exemplul familiei Wells este clasic. Admițînd presupunerea că pentru manifestarea coreei cronice este necesară o anumită vîrstă, penetranța genei patologice este absolută, în timp ce expresivitatea ei este diferită. Boala prezintă o variabilitate atît intra-, cît și interfamilială. În coreea cronică, rata de mutație, determinată printr-o metodă indirectă, este de 5×10^{-6} (113).

c) **Degenerescența hepatolenticulară** îmbracă două forme principale de manifestare clinică: boala Wilson și pseudoscleroza Westphal-Strümpell. În ambele se intrică simptome neurologice de tip hipertónico-hiperchinetice cu manifestări hepatice și pigmentarea corneei (inelul Kaiser-Fleischer). Pseudoscleroza Westphal-Strümpell se deosebește de boala Wilson printr-un debut mai tardiv și prin întregirea tabloului clinic cu simptome cerebeloase și piramidale. Din punct de vedere anatomic, atît în una, cît și în cealaltă, se constată leziuni degenerative ale formațiunilor extrapiramidale, ciroză hepatică și depunere corneană de cupru. În pseudoscleroza Westphal-Strümpell, leziunile nervoase sînt mai extinse, interesînd în plus scoarța cerebrală și cerebeloasă. A. G. Bearn (12) apreciază, cu ajutorul formulei Dahlberg, frecvența degenerescenței hepatolenticulare în Statele Unite la 0,025/100 000, iar A. Kreindler (81) raportează, în țara noastră, o frecvență de 1/100 000, care nu este întrecută decît de valorile statistice de la 1,9—6,8/100 000 ale unor cercetători japonezi (5). Boala se transmite foarte probabil după modul autozomal recesiv. Apariția degenerescenței hepatolenticulare la copiii unor părinți sănătoși, care de multe ori sînt înrudiți, susține această modalitate de transmitere. Din punct de vedere biochimic, în degenerescența hepatolenticulară se constată importante modificări ale metabolismului cupric și proteic care atestă natura dismetabolică a acestei afecțiuni (143). Principalele modificări ale metabolismului cupric sînt următoarele: creșterea absorbției și consecutiv scăderea eli-

minării intestinale a cuprului, diminuarea cuprului seric total (în condiții normale este fixat de ceruloplasmină), creșterea cuprului plasmatic (în degenerescența hepatolenticulară este insuficient fixat de proteine) și augmentarea eliminării de cupru prin urină. Modificările metabolice arătate fac ca bilanțul cupric să fie excedentar (aproximativ 0,5 mg se fixează în organism). La aceasta se adaugă tulburări ale metabolismului proteic, caracterizate prin scăderea ceruloplasminei serice sau insuficienta capacitate a acestei substanțe de a lega cuprul și eliminarea excesivă de aminoacizi prin urină. Deoarece natura tulburărilor metabolice primordiale este discutată, ele nu pot fi deocamdată cuprinse într-o concepție patogenică unitară și certă. În orice caz, scăderea cuprului seric total, a ceruloplasminei, precum și aminoaciduria au fost semnalate și la heterozigoții purtători ai „genci wilsoniene” (39), dar se pare că singurul mijloc de a diferenția heterozigoții hipoceruloplasminici de subiecții destinați să dezvolte boala clinică este punctia-biopsie hepatică cu dozarea cantitativă a cuprului. La aceștia din urmă, cuprul hepatic ajunge la 250—2000 mg/g țesut uscat față de sub 100 mg/g, cât este valoarea lui normală (133).

D. BOLILE PIRAMIDALE

Din cadrul larg al bolilor ereditare care afectează sistemul piramidal fac parte paralizii (paraplegiile) spastice spinale familiale de tip Strümpell-Lorrain și sindromul Sjögren-Larsson.

a) **Paraliziile spastice spinale familiale** aparțin grupului mare al bolilor degenerative abiotrofice. Din punct de vedere anatomic, se constată degenerarea simetrică a fasciculelor piramidale. Se pare că, la început, leziunile anatomice sînt cantonate în măduva lombară, de unde se extind pînă la decusația bulbară a fasciculelor piramidale. Uneori mai sînt interesate fasciculul Goll și fasciculele spinocerebeloase. Pe un prim plan, în simptomatologia clinică se situează spasticitatea membrelor inferioare, ca indiciu de suferință piramidală, față de manifestările cu mult mai rare și mai estompate ale leziunilor fasciculului Goll și fasciculelor spinocerebeloase.

Ordonarea genetică a paralizii spastice spinale familiale de tip Strümpell-Lorrain este deosebit de dificilă, deoarece în cadrul acestora au fost cuprinse, în mod arbitrar, o serie de paraplegii spastice, care de fapt aparțin fie leucodistrofiilor, fie encefalopatiilor infantile. Cu toate acestea s-au individualizat mai multe forme clinicogenetice de paralizii spastice familiale de tip Strümpell-Lorrain, în funcție de transmiterea dominant autozomală, recesiv-autozomală și recesiv-X-cromozomială.

— *Paralizia spastică spinală cu transmitere autozomală dominantă* reprezintă tipul genetic cel mai frecvent. Ca vîrstă de debut în cadrul acestuia, s-au descris cazuri la care semnele clinice au apărut o dată cu efectuarea primilor pași, cât și cazuri cu debut în al 6-lea deceniu de viață. De cele mai multe ori, instalarea insidioasă și evoluția lentă fac ca bolnavul să ne furnizeze informații eronate cu privire la momentul exact al debutului simptomatologiei clinice. Atunci cînd se examinează pedigreeul cu mai multe generații, se constată atît apariția mai timpurie a fenomenelor clinice (fenomenul de antepoziție sau anticipație), cât și agravarea acestora la generațiile mai tinere

(fenomenul de progresiune). Din cele peste 80 de pedigriuri publicate pînă în 1966, care cuprind în jur de 500 de bolnavi (15), rezultă, pe de o parte, că afecțiunea este mai frecventă la bărbați decît la femei, iar pe de altă parte, că sexul feminin este mai ușor afectat decît sexul masculin.

— Apariția paraliziei spastice spinale în numeroase cazuri sporadice și la descendenți din părinți sănătoși ne obligă să recunoaștem, alături de forma precedentă, o *formă cu transmitere autozomală recesivă*. În cadrul acesteia, în raport de vîrsta la care apar primele simptome clinice de boală, se descriu trei tipuri: infantil, juvenil și adult.

— În sfîrșit, *paraplegia spastică spinală familială cu transmitere recesivă legată de cromozomul X* este o entitate morbidă insuficient de bine precizată din punct de vedere genetic, deoarece transmiterea dominantă cu o afec-tare preferențială a sexului masculin apare de asemenea posibilă.

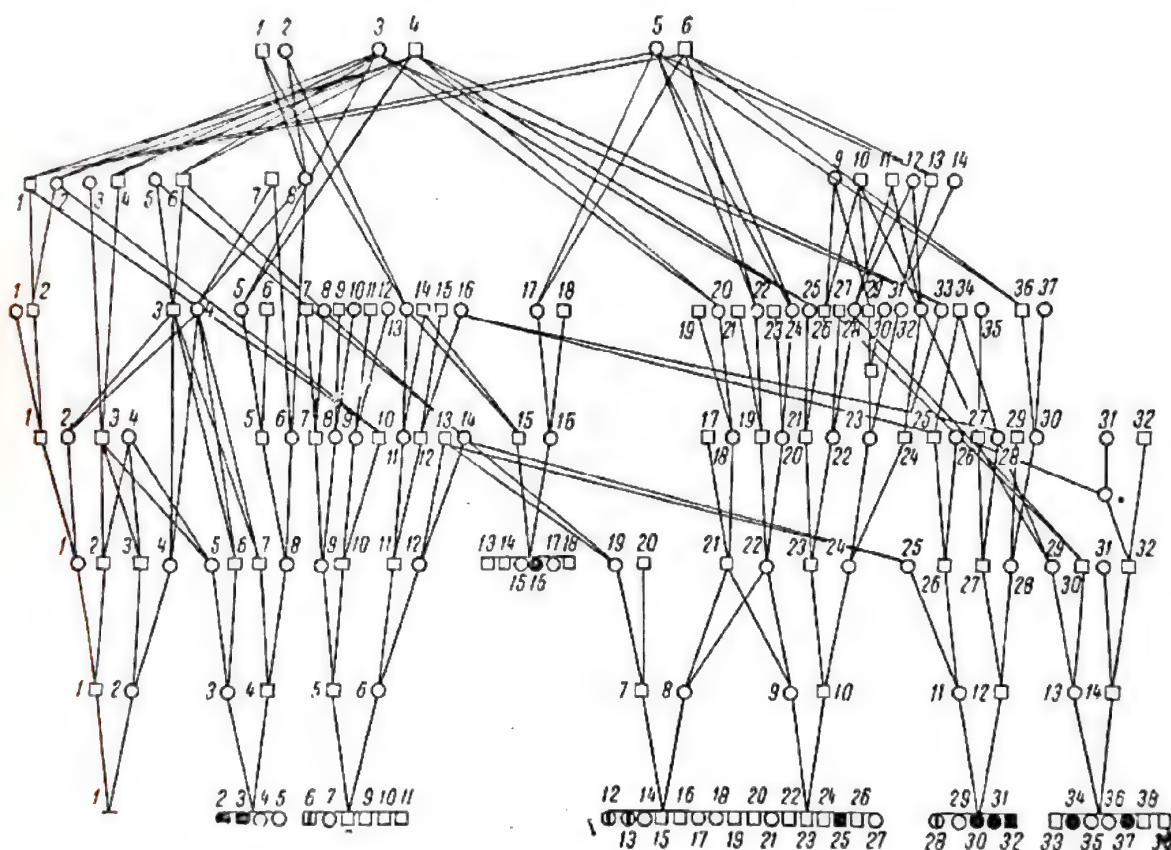


Fig. IX, 1. — Arbore genealogic cu sindrom Sjögren-Larsson din Haliwa—Carolina de Nord [după C. J. Witkop și F. Henry (1963)].

În orice caz, formele anatomice și clinicogenetice ale paraliziiilor spastice spinale rămîn în general eterogene pînă la evidențierea clarificatoare a defec-telor de metabolism (141).

b) Deosebit de interesante sînt problemele genetice pe care le suscită sindromul Sjögren-Larsson. Acest sindrom, descris în 1957 în nordul provin-

ciei suedeze Västerbotten (130), se compune din paralizie cu spasticitate mai exprimată la membrele inferioare, ihtioză congenitală și oligofrenie. Rezultatele cercetărilor biochimice nu sînt concordante (151). La unii bolnavi s-au stabilit, prin metoda cromatografiei pe hîrtie, valori crescute ale unor aminoacizi în urină (arginină, acid glutamic, glicină, cistină), pe care însă alți bolnavi nu le prezentau. Tulburările metabolice menționate nu par specifice, iar mecanismul lor nu se cunoaște încă. Boala se transmite recesiv-autozomal. Înrudirea dintre părinți este frecventă. De un interes deosebit este constatarea unei frecvențe crescute a cazurilor de sindrom Sjögren-Larsson pe un teritoriu geografic restrîns (nordul Suediei, Carolina de Nord). C. J. Witkop și F. V. Henry (152) au descris 14 bolnavi dintr-o rezervație din Carolina de Nord; această rezervație numără 4 500—5 000 de persoane, care descind din strămoși indieni, negri și europeni, căsătoriti între ei. S-a putut urmări filiația cazurilor pînă în 1790 (fig. IX, 1). Examinările cromozomiale au evidențiat cam la ficcare al treilea caz de sindrom Sjögren-Larsson trisomia 21 sau idiotia mongoloidă (118). Pentru lămurirea relației genetice dintre aceste afecțiuni au fost propuse două ipoteze: fie că gena patologică a sindromului Sjögren-Larsson se manifestă numai în stare heterozigotă cu trisomia 21, fie că aceeași genă localizată pe cromozomul 21 ar produce boala în condiții de doză dublă.

E. BOLILE NEUROMUSCULARE

Gruparea în comun a bolilor neuromusculare în general și a bolilor neuromusculare ereditare în special are la bază conceptul anatomic și funcțional de „unitate motorie”. Cu alte cuvinte, bolile neuromusculare sînt afecțiuni ale unității motorii. O unitate motorie constă din: neuronul motor, numit periferic, al cărui corp celular (perikarion) se găsește în cornul ventral al măduvei spinării și al cărui axon pătrunde prin rădăcina ventrală a nervului rahidian în nervul periferic; joncțiunea neuromusculară; fibrele musculare inervate de neuronul motor periferic.

În raport de sediul major al leziunii, pe una din componentele unității motorii, bolile neuromusculare cu determinism genetic se pot împărți în: boli ale neuronului motor periferic, care produc atrofia prin denervare a mușchiului sau neuropatii; boli ale joncțiunii neuromusculare; boli ale mușchiului, care produc amiotrofia printr-un mecanism muscular primitiv sau miopatii. Din sistematizarea prezentată rezultă că în afară de bolile joncțiunii neuromusculare, care rareori comportă modificări atroifice ale mușchiului, manifestarea anatomoclinică majoră a celorlalte afecțiuni neuromusculare este amiotrofia, neuropatică sau secundară în bolile neuronului motor periferic și miopatică sau primară în bolile mușchiului. Se pare însă că mecanismele patogenetice ale acestor amiotrofii sînt deseori intricate și mult mai complicate decît rezultă ele dintr-o sistematizare numai didactic tranșantă. Asupra patogeniei atrofiilor musculare vom reveni mai departe, după prezentarea sistematică a principalelor boli neuromusculare cu determinare ereditară.

1. BOLILE NEURONULUI MOTOR PERIFERIC CU DETERMINARE EREDITARĂ. NEUROPATIILE GENETICE

În cadrul larg al bolilor neuromusculare, comunitatea patogenică de subgrup a neuropatiilor, bazată pe implicarea componentei nervoase a unității motorii, se exprimă printr-o serie de caractere generale clinice, electromiografice, biochimice, morfopatologice și morfochimice. În același cadru, aceste caractere generale sînt în mod obișnuit opuse și deosebite de acelea ale miopatiilor, în care este implicată componenta musculară a unității motorii. Din punct de vedere clinic, neuropatiile se manifestă prin amiotrofii cu distribuție simetrică și predominant distală în membre, însoțite de îndurarea omogenă a mușchilor afectați, diminuarea forței musculare proporțională cu reducerea volumului muscular, crampe și fasciculații musculare, diminuarea sau abolirea reflexelor tendinoase, dar cu conservarea îndelungată a contracției idiomusculare și, în sfîrșit, deseori tulburări de sensibilitate și tulburări vasomotorii. De o mare valoare semiologică sînt fasciculațiile musculare, notate mai înainte, a căror apariție poate fi favorizată prin administrarea de prostigmină. La examenul electric se constată modificări cantitative și calitative ale excitabilității neuromusculare, iar la examenul electromiografic un traseu de tip neurogen. Unica modificare biochimică generală în neuropatii este creșterea creatinuriei. De fapt, creșterea creatinuriei a fost descrisă în miopatii și mult timp considerată ca o manifestare specifică a acestor afecțiuni. Astăzi se știe însă că ea este lipsită de specificitate, reflectînd în mod simplu reducerea cantității de țesut muscular activ, fiind prezentă atît în miopatii, cît și în neuropatii (27). Absența modificărilor serice ale enzimelor musculare (aldolaza, transaminaza, fosfocreatinkinaza), ca simptom negativ în bolile neuronului motor periferic, permite însă deosebirea biochimică dintre neuropatii, pe de o parte, și miopatii, pe de altă parte. Substratul morfopatologic al neuropatiilor se compune din modificări atroifice și nedegenerative, grupate, ale fibrelor musculare, care se izolează într-o încercuire de proliferare conjunctivă. La acestea se adaugă importante modificări citochimice, cu o recunoscută valoare diagnostică, dar cu o insuficiență și discutată semnificație patogenică. W. K. Engel (51) împarte modificările citochimice ale fibrelor musculare denervate în difuze și concentrice. Modificările citochimice difuze ale fibrelor musculare denervate se caracterizează prin creșterea activității enzimelor oxidative mitocondriale (se referă îndeosebi la DPNH-tetrazoliureductaza și menadionmediat — α glicerofosfatdehidrogenaza) și scăderea activității fosforilazei, a UDPG-glicogentransferazei cu diminuarea glicogenului PAS-colorabil. Activitatea miozin-ATP-azei rămîne în general nemodificată, dar rețeaua intermiofibrilară apare îngroșată. Dintre acestea, scăderea fosforilazei pare să fie cel mai sensibil indice al mușchiului neuropatic. Cea mai caracteristică modificare citochimică concentrică a denervării este așa-zisa fibră „target”. Această modificare se compune din trei zone concentrice, în care se succed alterații citochimice diferite ale principalelor componente ultrastructurale din fibra musculară: miofibrile, mitocondrii, reticul sarcoplasmic și sarcoplasma apoasă. Nu insistăm în detaliu asupra acestor modificări, dar sublinierea valorii diagnostice a fibrelor „target” în neuropatii este necesară.

Într-adevăr, ele au fost constatate în cel puțin 60% din aproape 200 de biopsii din neuropatii, dar ele nu au fost niciodată observate în mușchiul normal sau în mușchiul miopatic (51).

Dacă, într-o integrare corelată, caracterele generale, expuse mai înainte, sînt suficiente pentru a deosebi o neuropatie de o miopatie, ele nu sînt suficiente pentru a distinge o neuropatie dată și de o altă neuropatie. Individuizarea diferitelor forme de neuropatii se bazează în principal pe manifestări clinice și caractere genetice particulare. Particularitățile simptomatologice ale amiotrofiilor neurogene sînt la rîndul lor condiționate mai degrabă de sediul decît de natura leziunii anatomice pe neuronul motor periferic, a cărui suferință produce atrofia musculară. Ținînd seama de cele arătate, neuropatiile ereditare se divid în două grupe mari. Într-o primă grupă sînt cuprinse bolile pericarionului din cornul anterior al măduvei, iar în a doua grupă bolile rădăcinii rahidiene ventrale și ale nervului periferic.

a). BOLILE PERICARIONULUI DIN CORNUL ANTERIOR AL MĂDUVEI

Dintre acestea fac parte: atrofia musculară spinală infantilă, artrogripoza multiplă congenitală, atrofia musculară spinală juvenilă, atrofia musculară spinală a adultului și scleroza laterală amiotrofică. Din punct de vedere anatomic, toate se caracterizează prin leziuni degenerative ale celulelor radiculare mari din coarnele anterioare ale măduvei.

α) Atrofia musculară spinală infantilă sau boala Werdnig-Hoffmann debutează în mica copilărie, cel mai tîrziu pînă la vîrsta de 1 an, printr-un deficit motor însoțit de atrofii musculare ale membrelor inferioare, care se extind apoi la centura pelviană, trunchi, centura scapulară. Evoluția bolii este rapidă, ducînd la exitus pînă la vîrsta de 3—4 ani, prin tulburări respiratorii și de deglutiție, care favorizează suprainfecțiile bronhopulmonare (56% în primul an de viață, 80% înaintea celui de-al 4-lea an de viață) (24). Aceste tulburări se datoresc extinderii bulbare a leziunilor anatomice. Modificările histopatologice și histochimice enzimactice specifice au fost descrise în mușchii afectați. Specificitatea acestora constă nu atît în natura, cît în localizarea modificărilor citochimice, care caracterizează în general mușchiul denervat, aproape exclusiv pe tipul histometabolic I de fibre musculare (51). Aupra semnificației patogenice a acestor modificări vom reveni mai departe. În cel mai important studiu al bolii Werdnig-Hoffmann, pe 156 de cazuri, S. Brandt (24) apreciază frecvența afecțiunii în Danemarca la aproximativ 1/100 000. Pentru majoritatea cazurilor studiate, autorul citat constată că transmiterea bolii Werdnig-Hoffmann este recesiv-autozomală, consanguinitatea părinților acestor cazuri fiind de 6—8 ori mai mare decît la populația-martor. Pentru o parte din bolnavi, același autor admite o transmitere dominantă incompletă. Variabilitatea intrafamilială a bolii este mică, pe cînd cea interfamilială relativ mare. Afectarea cuplurilor gemelare univiteline apare concordantă.

β) Artrogripoza multiplă congenitală se manifestă clinic printr-un sindrom amiotrofic, cu implicarea mușchilor membrelor, abdominali, ai trunchiului, cefei și feței, asociat cu un sindrom osteoarticular (redori articulare

nedureroase, deformații articulare, luxații, fracturi). Modificările anatomice și electromiografice ale mușchilor afectați deosebesc forma neuropatică de forma miopatică și susțin cel puțin duplicitatea nosografică a artrogripozei multiple congenitale. Pe de altă parte, în numeroase cazuri, boala apare ca o manifestare sporadică, determinată mai degrabă de factori peristatici decât de factori genetici. Aceste cazuri sînt mai bine cuprinse în cadrul embriopatiilor sau fetopatiilor decât în acela al eredopatiilor. Cu toate acestea, în cel puțin 40, din peste 700 de cazuri publicate în literatură (108), artrogripoza multiplă congenitală are un caracter ereditar net, transmițîndu-se după modul autozomal dominant cu o penetranță ridicată.

γ) **Atrofia musculară spinală juvenilă sau pseudomiopatică (boala Kugelberg-Welander)** este considerată de unii, pe de o parte, ca forma juvenilă a bolii Werdnig-Hoffmann, iar, pe de altă parte, ca o entitate morbidă tranzițională spre atrofia musculară spinală a adultului (45). În raport cu vîrsta la care apar primele manifestări clinice, B. E. Becker (15) separă însă cazurile de boală Kugelberg-Welander în trei grupe: cu debut pînă la 5 ani, cu debut în al 2-lea deceniu de viață și cu debut tardiv, pînă la 60 de ani. Numai localizarea predominant proximală, la nivelul centurii pelviene și scapulare a deficitului motor și atrofiilor musculare conferă simptomatologiei clinice a acestei afecțiuni cu caracter pseudomiopatic. Celelalte manifestări simptomatice cît și modificări electrice, electromiografice, anatomice, semnează natura neuropatică a bolii Kugelberg-Welander. Investigațiile familiale ale lui E. Kugelberg și L. Welander (82), pe 12 bolnavi cu atrofie musculară spinală juvenilă, provenind din 6 familii, nu au pus în evidență transmiterea directă a bolii, dar au relevat o singură dată consanguinitatea. Astfel, cel puțin pentru o parte din cazuri, poate intra în discuție o transmitere ereditară recesivă (144). B. E. Becker (15) consideră însă că boala are o transmitere dominantă neregulată, în care gena patologică a^+ se exprimă fenotipic numai cînd este acompaniată de alela a^- (prezentă la 10% din populație) și rămîne „mută” cînd este alături de alela a (prezentă la 90% din populație).

δ) **Atrofia musculară spinală a adultului** îmbracă tabloul clinic al unei poliomielite anterioare cu debut tardiv, cu amiotrofii predominant distale ale membrilor superioare și inferioare și cu evoluție progresivă, îndelungată. Atunci cînd atrofiile musculare interesează numai extremitățile distale ale membrilor superioare, se realizează sindromul Aran-Duchenne. Din punct de vedere genetic, în unele forme familiale de boală se constată o transmitere dominant autozomală.

ε) În sfîrșit, o ultimă afecțiune din grupa bolilor pericarionului din cornul anterior al măduvei, scleroza laterală amiotrofică sau boala Charcot. În forma sa completă și comună, scleroza laterală amiotrofică se caracterizează printr-un sindrom amiotrofic spinal identic cu acela al atrofiei musculare spinale a adultului, care atestă suferința corpurilor neuronali din coarnele anterioare ale măduvei, un sindrom bulbar, care denotă implicarea pericarionilor motori ai nervilor bulbari, echivalenți coarnelor anterioare ale măduvei, și un sindrom piramidal, de tip paraplegic sau tetraplegic, care indică interesarea concomitentă a celulelor piramidale corticale și a fasciculelor piramidale. În esență, simptomatologia clinică a bolii exprimă afectarea neu-

ronului motor periferic și a neuronului motor central. În mușchii afectați se constată histochimic implicarea selectivă, când a tipului histometabolic I, când a tipului histometabolic II de fibre musculare (51). Din punct de vedere etiologic se pot deosebi trei forme de scleroză laterală amiotrofică: sporadică, familială de scleroza laterală amiotrofică din insula Guam (57).

Pe 181 de probanți extrași din 185 000 de cazuri, W. F. Haberlandt (67) apreciază frecvența sclerozei laterale amiotrofice, în Westfalia, la 1/1 000 în raport cu celelalte afecțiuni neuropsihice și la mai puțin de 1/100 000 față de populația generală. Majoritatea autorilor susțin originea exogenă a formei sporadice. În forma familială și în scleroza laterală amiotrofică din insula Guam, rolul eredității pare de necontestat.

Frecvența cazurilor familiale de scleroză laterală amiotrofică este de aproximativ 12%. Câteva particularități simptomatologice caracterizează forma familială de scleroză laterală amiotrofică: debutul în copilărie sau adolescență și evoluția îndelungată a bolii, cu apariția tardivă a manifestărilor bulbare. Afecțiunea se transmite după modalitatea autozomală dominantă neregulată, cu o penetranță mai redusă la femei decât la bărbați.

În insula Guam, din complexul insulelor Mariene din Oceanul Pacific, L. T. Kurland și D. W. Mulder (83) constată o frecvență de aproximativ 100 de ori mai mare a sclerozei laterale amiotrofice față de celelalte regiuni, cu 40—50% cazuri familiale. În această insulă trăiește o populație anumită Chamorros, care provine din femei microneziene, spanioli, mexicani și filipinezi. Transmiterea bolii pare să fie recesiv autozomală. Boala este numită „*litico*” de către băștinași și clinic nu se deosebește de forma comună decât prin adăugarea în unele pedigriuri a complexului simptomatologic „parkinsonism-demență”.

b) BOLILE RĂDĂCINII RAHIDIENE VENTRALE ȘI ALE NERVULUI PERIFERIC

Cea de-a doua grupă a neuropatiilor ereditare este reprezentată prin bolile rădăcinii rahidiene ventrale și ale nervului periferic. Din această grupă fac parte: atrofia musculară peronieră, polineuropatia interstițială hipertrofică, neuropatia amiloidozică și neuropatia porfirinică. Din punct de vedere anatomic, toate se caracterizează prin leziuni degenerative ale rădăcinilor rahidiene ventrale și ale nervilor periferici.

α) Atrofia musculară peronieră sau boala Charcot-Marie-Tooth debutează în mod obișnuit între 10 și 20 de ani și se manifestă clinic prin atrofii musculare distale, cu limită superioară netă, în „jartieră” la membrele inferioare, care sînt inițial afectate, și în „manșetă” la membrele superioare, interesate ulterior. Uneori se adaugă discrete tulburări de sensibilitate, care indică implicarea concomitentă a cordoanelor medulare posterioare. Examenul biopsic al mușchilor, electromiografia și determinarea vitezei de conducere prin nerv constituie metode importante pentru diagnostic. La examenul anatomic al mușchilor afectați, alături de modificările atrofice prin denervare, apar fibre musculare cu leziuni degenerative miopatie. Concomitența acestor două tipuri de leziune musculară este invocată în sprijinul naturii și în același timp neuropatice și miopatie a bolii (51). Scăderea vitezei de conducere prin nerv

sub 40—60 m/sec. ne oferă nu numai un element de diagnostic, ci și posibilitatea de a prevedea instalarea simptomelor clinice și de a descoperi purtătorii latenți ai genei patologice (46). Frecvența bolii Charcot-Marie-Tooth este de aproximativ 1/50 000. Boala influențează în mică măsură longevitatea și fertilitatea și se transmite după diferite modalități. W. Allan (3) admite trei moduri principale de transmitere a bolii Charcot-Marie-Tooth, care par să aibă fiecare un corespondent de exprimare fenotipică. Cel mai frecvent, gena patologică se transmite după modul dominant autozomal (55, 132). În majoritatea cazurilor, cu această modalitate de transmitere boala debutează tardiv și evoluează lent, cu o funcționalitate păstrată timp îndelungat. Forma de atrofie musculară peronieră cu transmitere autozomală recesivă evoluează cel mai sever, ducând la invalidități grave în decurs de câțiva ani, iar tipul cu transmitere X cromozomială recesivă ocupă o poziție intermediară între primele două (28).

β) Polineuropatia interstițială hipertrofică sau boala Déjérine-Sottas se caracterizează din punct de vedere clinic prin atrofii musculare identice cu acelea din boala Charcot-Marie-Tooth, la care se adaugă semne oculare (mioză, semnul Argyll-Robertson), ataxie cerebeloasă, nistagmus și cifoscolioză. Simptomatologia clinică exprimă o modificare anatomică de neuropatie interstițială hipertrofică cu caracter schwannian. Transmiterea bolii este dominant autozomală.

γ) Neuropatia amiloidozică reprezintă o manifestare comună a amiloidozei primare. Din punct de vedere clinic se exprimă printr-un sindrom de polinevrită mixtă, în care se intrică atrofii musculare cu tulburări de sensibilitate subiectivă și obiectivă, distribuite simetric și predominant distal în membre. În biopsia musculară, amiloidul se găsește în vasele sanguine, endonevru, perinevru, endomisiu și perimisiu, dar modificările histopatologice și citochimice ale fibrelor musculare nu diferă de tipul general al denervării. Mecanismul de formare a amiloidului rămâne însă obscur, cu toate că prezența concomitentă a hiperproteinemiilor și paraproteinemiilor, la amiloidozici, ar indica precipitarea tisulară a unor proteine serice anormale. Numeroase cazuri de neuropatie amiloidozică au fost semnalate în Portugalia (4). Distribuția geografică a acestor cazuri face logică supoziția intervenției unui factor de mediu, dar apariția afecțiunii la mai mult de patru generații, cât și îmbolnăvirea în Statele Unite a unor imigranți din Portugalia pledează mai mult pentru un factor genetic. Transmiterea bolii apare dominantă (97).

δ) Neuropatia porfirinică însoțește forma acută intermitentă și forma mixtă sau variată a porfiriei hepatice, lipsind în porfirie eritropoietică (148). Dar, neuropatia porfirinică nu reprezintă singura manifestare neurologică a porfiriei hepatice. La sindromul clinic al unei polinevrite sau poliradiculonevrite, para- sau tetraplegice, pe care-l realizează neuropatia porfirinică, se mai adaugă simptome bulbare (paralizie respiratorie, tulburări de deglutiție și de fonație), tulburări psihice (de tipul neurasteniei, isteriei, psihozei maniacodepresive, schizofreniei) și importante manifestări vegetative. Uneori se constituie tabloul complex al unei encefalomielopoliradiculonevrite. Atât în forma acută intermitentă, cât și în forma mixtă sau variată a porfiriei hepatice, simptomatologia neurologică se completează cu manifestări gastrointestinale, hipertensi-

une arteriale, tahicardie. Fotosensibilitatea tegumentelor lipsește de obicei în forma acută intermitentă, în timp ce ea poate fi prezentă în forma mixtă sau variată. Simptomatologia neurologică a porfiriei este determinată de leziuni neregulat diseminate, de obicei demielinizante, ale sistemului nervos periferic, central și vegetativ. C. Rimington (114) consideră că și alte manifestări viscerale ale porfiriei pot fi explicate prin leziunile sistemului nervos. Simptomele gastrointestinale s-ar datora unor leziuni ale fibrelor efortorii preganglionare, care inervează viscerele abdominale, iar hipertensiunea arterială și tahicardia pot fi explicate prin leziunile sistemului regulator sinoaortic. Dacă întreaga simptomatologie a porfiriei poate fi atribuită modificărilor anatomice ale sistemului nervos, mecanismul prin care porfirinele acționează asupra sistemului nervos nu este încă elucidat. Ipoteza toxicității acestor substanțe și ipoteza ischemiei angiospastice nu sînt susținute nici de probele experimentale, nici de faptele de observație clinică. Ipoteza unei alterații biochimice explică cel mai satisfăcător particularitățile semiologice ale porfiriei. Această leziune biochimică este, după C. Rimington (114), în relație cu producerea de acetilcolină: fie că ea afectează sistemul enzimatic responsabil de transferul acetyl sau acetyl-coenzimă A spre colină; că producerea de acetyl-coenzimă A este diminuată prin reducerea aportului energetic reprezentat de adenozintrifosfat sau printr-o perturbare metabolică a pantotenului. Din punct de vedere genetic, cele două forme de porfirie hepatică, cu manifestări nervoase, apare independente, deși ambele se transmit după modul autozomal dominant. J. Waldenström (145, 146) a arătat că în Suedia, boala se manifestă numai prin forma acută intermitentă, fără manifestări cutanate, iar G. Dean (37) a constatat că în Africa de Sud, porfiriile familiale îmbracă simptomatologia formei mixte sau variate în care pot fi prezente manifestări acute, cutanate sau mixte. G. Dean și H. D. Barnes (38) cred că independența genetică a formelor suedeze și sud-africane de porfirie au un suport biochimic. Autorii citați au observat la cazurile suedeze în curs de remisiune o creștere persistentă a porfobilinogenului urinar, în timp ce porfirinele din fecale scad la valori normale. Dimpotrivă, cazurile descrise în Africa de Sud prezintă în timpul remisiunilor o eliminare crescută de copro- și protoporfirine prin urină.

2. BOLI ALE JONCTIUNII NEUROMUSCULARE

a) MIASTENIA

Miastenia gravă, numită încă și boala Erb-Goldflam, se caracterizează clinic printr-o fatigabilitate musculară accentuată, cu o exagerată și rapidă epuizare a forței musculare, după un efort fizic, datorită unui dezechilibru metabolic colinesterazic, la nivelul jonctiunii neuromusculare, sensibil la prostigmină. Din punct de vedere morfologic, în mușchi se constată limforagii, modificări distrofice (115) sau de denervare (58, 25). În etiopatogenia bolii, insuficient cunoscută, se susține intervenția unui mecanism autoimun legat de o disfuncție timică. Rolul eredității în această afecțiune, presupus tocmai din motivul insuficienței cunoașterii a etiopatogeniei ei, este foarte discutabil. Pe

mai multe mii de cazuri, P. E. Becker (13) constată abia de 9 ori apariția miasteniei la frați și conchide împotriva eredității bolii. Spre deosebire însă de miastenia gravă, cu debut la vârsta adultă, miastenia infantilă și juvenilă prezintă o istorie familială pozitivă, dar modul de transmitere este discutat.

3. BOLI MUSCULARE CU DETERMINISM GENETIC. MIOPATII GENETICE

a) DISTROFIILE MUSCULARE

O precizare terminologică este necesară. Pentru denumirea acestor afecțiuni se mai utilizează, printr-o consacrare tradițională, îndeosebi în literatura de limbă franceză (86), termenul de miopatie. Deoarece utilizarea termenului de miopatie în sensul arătat implică eludarea semnificației sale generale reale în favoarea unei accepțiuni arbitrar limitate, se tinde astăzi la înlocuirea lui cu denumiri mai adecvate, de distrofie musculară genetică sau distrofie musculară progresivă, folosite mai ales în literatura de limbă germană și engleză. Cu această semnificație generală respectiv limitată, sînt utilizate în expunerea pe care o prezentăm denumirile de miopatie, respectiv distrofie musculară. În grupa distrofiilor genetice, W. K. Engel (51) după a cărui concepție ne-am orientat în sistematizarea bolilor neuromusculare în general, include, pe lîngă formele comune cu modificări anatomice, histochimice și biochimice nespecifice și unele distrofii musculare rare, care se singularizează prin modificări specifice fie morfologice, fie biochimice.

α) Distrofiile musculare comune. Unele caractere generale clinice, electrice, electromiografice, biochimice, morfopatologice și morfochimice justifică nosografia grupată a acestora, iar unele caractere particulare, în principal clinicogenetice, justifică individualizarea formelor separate. În general, distrofiile musculare comune se caracterizează din punct de vedere clinic prin atrofii musculare, simetrice și bilaterale, predominant proximale, completate uneori cu pseudohipertrofii musculare predominant distale, însoțite de îndurarea mușchilor interesați și dispariția precoce a reflexelor idiomusculare, dar lipsite de modificări ale reflexelor tendinoase, tulburări de sensibilitate, fasciculații și crampe musculare. Examenul electric evidențiază numai modificări cantitative, iar examenul electromiografic înregistrează un traseu de tip miogen. Unele modificări biochimice, urinare și serice, apar constant. Creșterea creatinuriei, care reflectă reducerea cantității de țesut muscular activ este lipsită de specificitate, pentru că ea este prezentă în miopatii de altă natură și în neuropatii (20). Deși mai caracteristică, ridicarea valorilor serice ale aldolazei, transaminazelor și fosfocreatinkinazei, probabil printr-un mecanism de permeabilizare a membranei fibrelor musculare, nu are nici ea o specificitate absolută (27). Într-adevăr, dacă valorile serice ale enzimelor musculare nu sînt modificate în neuropatii, ele apar însă crescute în alte miopatii și îndeosebi în miozite. Neintegrate încă în contextul unei tulburări metabolice cu semnificație patogenică, ele își păstrează o reală valoare diagnostică și rămîn cel mai bun semn biologic al distrofiilor genetice. De aceea, I. C. Dreyfus și colab. (44) au propus dozarea enzimelor musculare, alături de măsurarea vitezei circulatorii, deseori modificată, ca teste pentru depistarea heterozigoților în



distrofiile musculare genetice. După autorii citați, asocierea acestor două metode permite evidențierea unor modificări la mamele sigur transmițătoare în peste 80% din cazurile studiate. Mai mult, aplicarea sistematică și pe scară largă a metodelor arătate ar putea oferi soluția unei importante, dar nerezolvate probleme din genetica distrofiilor musculare, aceea a proporției de noi mutații. Caracterele generale schițate mai înainte sînt acordate la un substrat morfolezional caracterizat în special prin modificări atrofice și degenerative dispersate ale fibrelor musculare, însoțite de o importantă hiperplazie conjunctivogrăsoasă de înlocuire. Aceasta din urmă răspunde de aspectul pseudohipertrofic al unora din mușchii interesați. Deosebit de interesante, dar deocamdată cu semnificație mai mult diagnostică decît patogenică, sînt modificările citochimice ale fibrelor musculare lezate. Activitatea miozin-ATP-azei este conservată. Ea scade difuz numai în fibrele musculare flocluate sau lichefiate, în care și celelalte reacții citochimice dispar. Activitatea enzimelor oxidative mitocondriale și a fosforilazei sarcoplasmice este focal crescută și focal scăzută, iar rețeaua intermiofibrilară apare ușor îngroșată sau cu aspectul de „mîncat de molii”. Constatările lui G. H. Bourne și colab. (23, 66) asupra unei activități ATP-azice crescute în țesutul conjunctiv al mușchiului distrofic nu au fost confirmate de alți cercetători (51).

O imagine de ansamblu, fundamentată pe trăsături generale, chiar dacă ea ne oferă un cadru nosografic de grup, rămîne grosieră și inoperantă în descifrarea formelor separate ale distrofiilor musculare, a căror individualizare trebuie bazată pe caractere particulare distructive în principal și în același timp clinice și genetice. Considerarea separată, fără corelare genetică a unei mari varietăți de particularități clinice a dus la izolarea insuficient fundamentată, mai degrabă arbitrară, a unei varietăți la fel de mari de distrofii musculare comune și, prin aceasta, la mai multă confuzie decît claritate. Corelarea genetice la aceste particularități a permis însă ordonarea, chiar dacă nu tranșantă, cel puțin comprehensibilă, a unui cadru nosografic larg cu un conținut clinic aproape haotic. Așadar, avînd în vedere deodată ambele criterii, clinic și genetic, majoritatea autorilor (144, 14, 79, 96, 27, 86) disting următoarele distrofii musculare comune: distrofia musculară pseudohipertrofică, distrofia musculară facioscapulohumerală, distrofia musculară a centurilor, distrofia musculară oculară și distrofia musculară tardivă distală.

— *Distrofia musculară pseudohipertrofică (boala Duchenne)*. Atrofia interesează în primul rînd mușchii centurii pelviene. Pseudohipertrofia mușchilor gambei a fost considerată multă vreme ca un criteriu esențial în diagnosticul acestei afecțiuni. Dar, pseudohipertrofia musculară, deși frecventă, nu apare constant în distrofia Duchenne, după cum ea poate fi prezentă în alte tipuri de distrofie musculară progresivă (86). Se face în general distincția între o formă cu debut precoce, în primii 3 ani de viață, cu evoluție relativ rapidă, prognostic sumbru (tipul A ascendent al lui Becker) și o formă cu debut între 12 și 25 de ani, cu evoluție în general mai lentă, prognostic relativ mai bun (tipul B ascendent al lui Becker). Se consideră că aceste două forme clinice corespund la două modalități diferite de transmitere a bolii: X cromozomială recesivă, pentru prima, și autozomală recesivă pentru a doua. Această deosebire nu apare însă suficient de fundamentată. Oricum, cel mai comun, după

unii exclusiv, mod de transmitere a bolii Duchenne este transmiterea X cromozomială recesivă, asemănătoare cu aceea a hemofiliei, în care femeile aparent sănătoase transmit boala la descendenții de sex masculin. După opinia lui P. E. Becker (13), care admite numai această modalitate de transmitere, cele două forme clinice ale bolii s-ar explica prin stadii diferite de mutație a uneia și aceleași gene (alelie, multiplă). D. Laplane (86) consideră însă că ereditatea X cromozomială nu epuizează integral modalitatea de transmitere a distrofiei musculare pseudohipertrofice. Într-adevăr, o primă mare dificultate se datorește numărului mare de cazuri sporadice în familii aparent sănătoase. Existența acestor cazuri este explicată fie prin caracterul recesiv al bolii, care face necesară conjuncția a doi părinți în aparență sănătoși, dar purtători ai tarei, fie printr-o mutație în celula primordială a celui interesat. F. H. Tyler și M. M. Wintrobe (140) apreciază frecvența acesteia la $5,4 \times 10^{-5}$, ceea ce reprezintă una dintre cele mai ridicate valori în genetica umană. Cea de-a doua mare dificultate se datorește existenței cazurilor feminine. Susținătorii transmiterii X cromozomiale consideră că aceste cazuri provin fie din unirea unui tată bolnav cu o femeie care transmite tara, fie din unirea unei mame cu același genotip cu un tată sănătos a cărui celulă fecundată ar fi suferit mutația patologică. Se pare însă că pentru explicarea acestor cazuri feminine de boală Duchenne trebuie să admitem mai degrabă modul de transmitere autozomal recesiv. Acest mod de transmitere, deși mult mai rar decât ereditatea X cromozomială, este admis în aproximativ 10% din cazuri (86).

— *Distrofia musculară facioscapulohumerală (boala Landouzy-Déjérine)*. Boala interesează mușchii feței și centurii scapulare. Masculatura extrinsecă a globilor oculari este de obicei respectată, permițând deosebirea de distrofia oculară. Debutază mai târziu decât forma precedentă, între 7 și 25 de ani (144) și are o evoluție lentă, relativ benignă, compatibilă cu o oarecare activitate. Cu o semnificație de principiu deosebit de interesantă pentru mecanismul de producere a distrofiilor musculare în general este constatarea citochimică a unei modificări relativ specifice a activității enzimelor oxidative mitochondriale, care interesează exclusiv fibrele musculare de tipul I, într-un caz de distrofia facioscapulohumerală (52). Din punct de vedere genetic, afecțiunea se manifestă egal la cele două sexe și se transmite după un mod autozomal dominant. Acest mod de transmitere este foarte pregnant ilustrat de o familie descrisă de F. H. Tyler și M. M. Wintrobe (140), al cărei arbore genealogic urcă pînă în secolul al XVII-lea și în care afecțiunea a apărut la 6 generații; din 273 de copii ai distroficienilor de sex masculin și feminin, 130 au făcut boala și 143 au rămas sănătoși. Rezultă o relație de 1:1, ceea ce corespunde valorii mendeliene pentru o dominanță simplă. Cu toate acestea există în literatură o observație unică, publicată de A. C. Stevenson (134), în care distrofia facioscapulohumerală s-a transmis după modul autozomal recesiv. Se susține însă că acest autor ar fi putut neglija în studierea familiei descrise formele fruste de boală ca, de exemplu, acelea cu implicare facială exclusivă, de unde o falsă aparență de transmitere autozomală recesivă. Oricum, observația lui A. C. Stevenson (134) face îndoielnică unicitatea modului de transmitere a distrofiei facioscapulohumerale (86).

— *Distrofia musculară a centurilor (limb-gyrdle)* individualizată de J. H. Walton și F. J. Nattrass (147) formează un cadru nosografic destul de eterogen atât din punct de vedere clinic, cât și din punct de vedere genetic și de aceea cu o autonomie insuficient de fundamentată. În acest cadru sînt în general cuprinse distrofia musculară a centurii pelviene fără hipertrofii și distrofia centurii scapulare fără implicare facială. Transmiterea bolii s-ar face după modul autozomal recesiv, dar există de asemenea și numeroase cazuri sporadice.

— *Distrofia oculară*, descrisă de L. G. Kiloch și S. Nevin (78), considerată altă dată ca o neuropatie sub denumirea de oftalmoplegie musculară cronică progresivă, se deosebește de distrofia facioscapuloumerală, față de care prezintă similitudini în același timp clinice și genetice numai prin interesarea primitivă a musculaturii oculare extrinseci (86).

— *Distrofia musculară tardivă distală*, individualizată de S. Nevin (98) și L. Welander (149), se caracterizează clinic prin atrofii ale mușchilor mîinilor și picioarelor, iar din punct de vedere genetic printr-o transmitere autozomală dominantă și manifestări mai grave la homozigoți decît la heterozigoți.

β) *Distrofii musculare rare*. Deși mai puțin importante din punct de vedere practic, ele impun prin semnificația patogenică pe care o implică modificările specifice, biochimice sau morfochimice ce le caracterizează cel puțin schițarea lor enumerativă. După W. K. Engel (51), în cadrul acestor afecțiuni se pot deosebi de la început două grupe: într-o primă grupă se situează distrofiile musculare rare cu tulburări în metabolismul glicogenului, iar în a doua grupă acelea cu modificări morfochimice specifice:

— Din prima grupă a acestor afecțiuni fac parte: *distrofia musculară prin insuficiență de fosforilază*, tipul juvenil (90, 121, 106, 122, 92) și tipul adult (53), ambele caracterizate prin absența totală a fosforilazelor (*a* și *b*) din fibrele musculare, însoțită de o variabilă depunere de glicogen; *boala cardiomusculară cu stocaj de glicogen* în fibrele musculare, printr-o insuficiență de maltază acidă și „*limit*” *dextrinoza*, în care depozitarea glicogenului în fibrele musculare este consecința unei insuficiențe de amido-10-1,6-glucozidază (51).

— În grupa a doua a distrofiilor genetice rare sînt încadrate: boala „*central core*” (126), în care fibrele musculare apar centrate de o regiune („*core*”) lipsită de activitățile enzimaticice ale principalelor lor componente subcelulare; *miopatia „nemaline”* (49, 30, 128, 54), caracterizată prin apariția în fibrele musculare a unor „*rods*”-uri formate dintr-o proteină înrudită cu miozina (128, 54), fără activități enzimaticice (51); *acantocitoza* prin insuficiență de β-lipoproteine serice, cu o deformare caracteristică a eritrocitelor din mușchi („*thorny*”), adăugată la modificări citochimice musculare în care semnele distrofice se alătură celor de denervare.

b) BOLI MUSCULARE GENETICE CU MIOTONIE

Reprezintă a doua grupă mare a bolilor musculare cu determinism genetic, care cuprinde: distrofia miotonică, miotonia congenitală și paramiotonia congenitală, caracterizate în general prin asocierea unui sindrom miotonic la semnele de suferință musculară.

α) Distrofia miotonică (miotonia atrofică sau Boala Steinert). Simptomatologia principală a acestei afecțiuni se compune din atrofii musculare [mușchii mâinilor, antebrațelor, feței, sternocleidomastoidienilor și mușchilor inervați de nervii bulbari, rar interesați în distrofiile musculare (22)], miotonie și cataractă. Cataracta este cvasiconstantă (apare în 97% din cazuri, după D. Klein (79) și se constituie înaintea simptomelor neurologice. De aceea are importanță deosebită în diagnosticul precoce al bolii, dar deseori se evidențiază numai prin examenul biomicroscopic. La aceste simptome principale se mai adaugă, după o modalitate variabilă, tulburări endocrine și îndeosebi hipoplazii genitale, care reduc gradul de fertilitate, crescând numărul celibatarilor și al căsătoriilor sterile la aproximativ 2/3 din cazuri, după von Verschuer (144), tulburări vegetative vasomotorii și trofice osoase și tulburări psihice. Pe lângă leziunile distrofice ale fibrelor musculare, asemănătoare cu acelea din distrofiile musculare, câteva particularități anatomice și histochimice nespecifice, corpii citoplasmatici (49) și relativ specifice, inelele striate (70), masele sarcoplasmice (153) și hiperplazia în șir a nucleilor sarcolemei (51) au fost descrise în această afecțiune. Din punct de vedere genetic, distrofia miotonică se transmite după modul autozomal dominant, cu o penetranță aproape completă a genei patologice. Cercetările lui D. Klein (79) pe 182 de frații atinse dau o proporție de 362 de copii bolnavi față de 355 normali (50,5%), ceea ce corespunde valorii mendeliene pentru o dominanță simplă. Cu toate că boala interesează în mod egal ambele sexe, în transmiterea ei se poate constata predominanța sexului masculin. După I. Bell (16), transmiterea se face prin tată în 52% din cazuri, prin mamă în 25,30% și rămâne nedeterminată în 22,70% din cazuri. În cazistica lui I. Bell (16) și aceea a lui D. Klein (79), vârsta medie de manifestare a bolii este de 24—25 de ani. Divizând însă bolnavii în două categorii, generația parentală și generația filială, D. Klein (79) constată că vârsta medie în generația parentală este de 50,5 ani, iar aceea a generației filiale de 27,4 ani. Această constatare pune în discuție legea antepoziției (anticipației). Antepoziția vârstei de manifestare este considerată de unii ca o eroare statistică datorită selecției materialului, boala implicând sterilitate. Pentru ca să se poată transmite la descendenți, trebuie să apară tardiv la parentali, iar descendenții îmbolnăviți la o vârstă tânără rămân fără copii, dar după alții anticipația reprezintă un fenomen biologic real (79). D. Klein (79) apreciază frecvența distrofiei miotonice în Elveția la 4,9 bolnavi la 100 000 de locuitori, iar rata de mutație la $1,6 \times 10^{-5}$.

β) Miotonia congenitală (Miotonia hipertrofică sau boala Thomsen). Sindromul miotonic care reprezintă o caracteristică clinică a bolii Thomsen nu mai justifică astăzi apropierea nosografică a acestei afecțiuni de distrofia miotonică (boala Steinert). Pe de altă parte, miotonia ca sindrom poate apărea în afecțiuni cu totul deosebite de miotoniile-boală (22), iar pe de altă parte, făcând abstracție de sindromul miotonic, boala Thomsen se deosebește de boala Steinert atât din punct de vedere clinic și anatomic, cât și din punct de vedere genetic. Într-adevăr, boala Thomsen se manifestă clinic prin hipertrofii musculare neînsoțite de cataractă și tulburări endocrine (86), anatomic prin hipertrofie simplă, fără modificări degenerative ale fibrelor musculare, dar cu apariția „agregatelor mitocondriale”, ca în paralizile periodice ere-

ditare (51), iar genetic, chiar dacă ea se transmite după modul autozomal dominant, în familia lui Thomsen, boala a apărut la 64 de persoane în 7 generații (144); familiile de thomsenieni nu au dat niciodată naștere decât la thomsenieni, iar familiile cu boala Steinert nu au dat niciodată naștere decât la bolnavi cu această afecțiune (86).

γ) Prezența sindromului miotonic în unele cazuri de adinamie episodică ereditară — **paramiotonia congenitală** sau boala **von Eulenburg** — sugerează mai degrabă înrudirea nosografică a bolii Thomsen cu paralizii periodice ereditare decât cu boala Steinert (61). În același sens pledează și constatarea anatomică menționată a „agregatelor mitocondriale“.

c) PARALIZIILE PERIODICE EREDITARE

Din cadrul mare al miopatiilor genetice mai fac parte paralizii periodice ereditare. Se caracterizează din punct de vedere clinic prin crize de paralizie flască, spontan rezolutive, dar recidivante, de o durată variabilă (1 oră — 3 săptămâni), însoțite de diminuarea sau abolirea reflexelor tendinoase, dar fără modificarea conștiinței, fără tulburări de sensibilitate, fără pierderea controlului sfincterian și prin absența oricăror simptome subiective și obiective în intervalele intercritice. Cel puțin trei afecțiuni deosebite se manifestă printr-o asemenea simptomatologie clinică:

α) **Paralizia periodică familială hipokaliemică**, descrisă de C. Westphal (150), în care crizele paralitice se însoțesc de scăderea potasiului seric (2), pot fi provocate prin administrarea de glucoză, glucoză plus insulină, DOCA, epinefrină, ACTH (2, 73), substanțe cu acțiune cunoscută în coborîrea potasiului seric, și pot fi vindecate cu clorură de potasiu.

β) **Paralizia periodică normokaliemică**, sensibilă la potasiu, descrisă de D. C. Poskanzer și D. N. S. Kerr (111), în care manifestările paralitice critice nu sînt însoțite de modificări ale potasiului seric, pot fi produse prin administrarea sărurilor de potasiu și vindecate prin administrarea de clorură de sodiu, 9-α-fluorohidrocortizon și acetazolamidă.

γ) **Adinamia episodică ereditară (hiperkaliemică)**, individualizată de I. Gamstorp (60), ale cărei crize de paralizie se asociază cu creșterea potasiului seric, putînd fi declanșate prin sărurile de potasiu și vindecate cu gluconat de calciu.

Modificările potasiului seric din paralizia periodică familială hipokaliemică și adinamia episodică ereditară hiperkaliemică, răspunzătoare de crizele paralitice, au fost atribuite fie unei erori metabolice a substanțelor hidrocarbone (91, 43, 103, 117, 120), fie unor tulburări endocrine: tireotoxicoză (125), hiperaldosteronism (31). În paralizia periodică familială hipokaliemică și adinamia episodică ereditară, ca și în paramiotonia congenitală au fost descrise, din punct de vedere anatomic, în fibrele musculare, așa-numitele „vacuole centrale“ glicogen-PAS pozitive, interesînd într-o observație unică numai tipul histometabolic I (51), considerate de G. M. Shy și colab. (127) ca mase moleculare subpolimerizate anionice și nedifuzabile de glicogen, care ar cauza un influx de apă și electroliți în interiorul mușchiului, și așa-numi-

tele „agregate mitocondriale“ (50) limitate exclusiv la tipul II de fibre musculare. Din punct de vedere genetic, paralizia periodică familială hipokaliemică se transmite după modul autozomal dominant (63, 56, 64) cu o penetranță ridicată a genei patologice la sexul masculin și redusă la sexul feminin [12:1 în cazuistica lui Sagild (116)]. Celelalte tipuri de paralizie periodică ereditară se transmit după modul autozomal dominant cu penetranță egală la cele două sexe (61).

4. MECANISMUL PATOGENIC AL BOLILOR NEUROMUSCULARE GENETICE

Prezentarea analitică a pricipalelor neuropatii și miopatii cu determinare genetică trebuie întregită cu expunerea unei concepții patologice sintetice, fundamentată pe constatările histo- și citochimice enzimactice, care să justifice comunitatea nosografică de grup a bolilor neuromusculare ereditare ca afecțiuni ale unității motorii. În sensul arătat vom prezenta cea mai recentă ipoteză patogenică, așa cum a fost concepută de W. K. Engel (51) (fig. IX, 2).

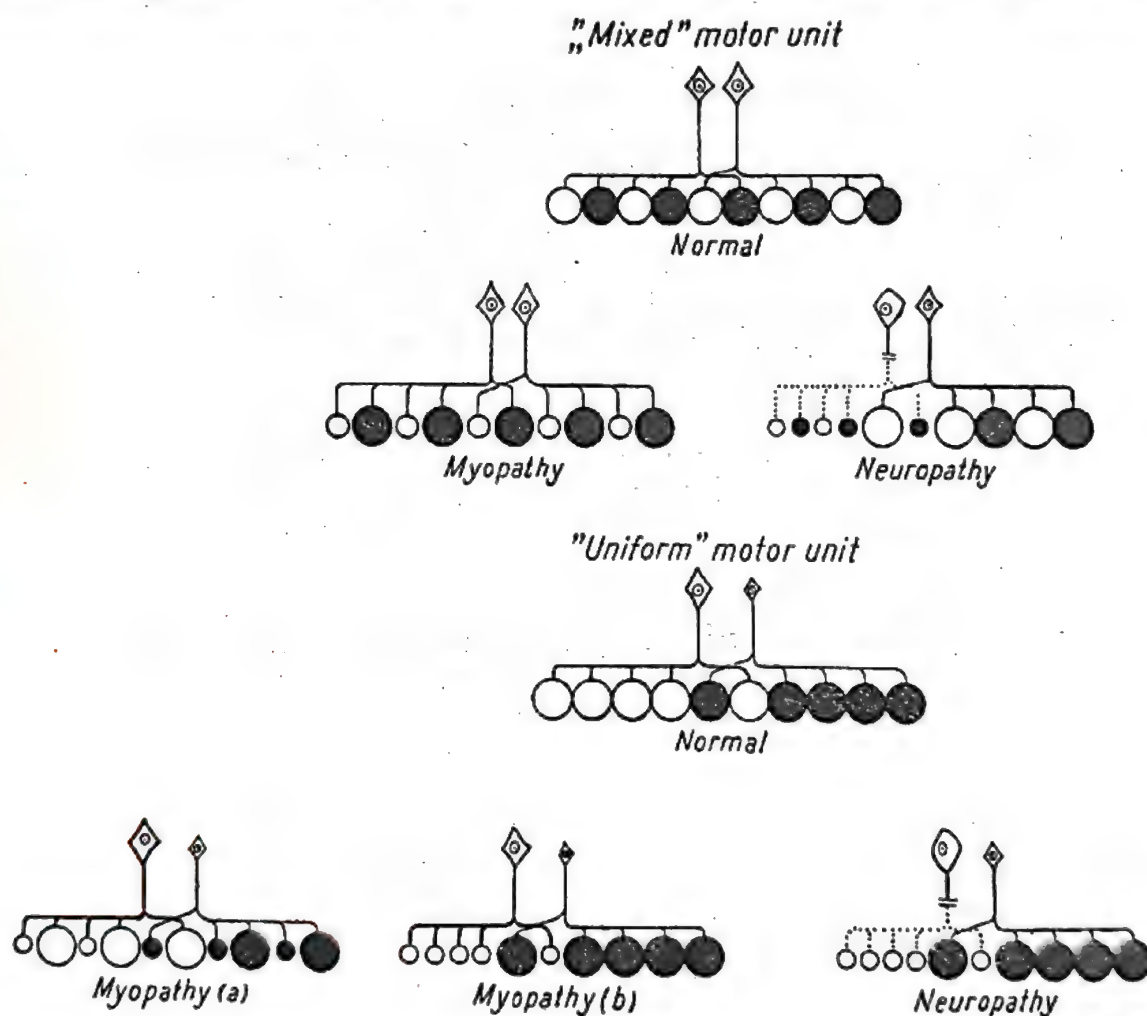


Fig. IX, 2. — Compoziția ipotetică a unei unități motorii și reacțiile patologice posibile. Fibrele clare și întunecate reprezintă tipurile histometabolice I și II. Fibrele mici sînt patologice (miopatie sau neuropatie) [după W. K. Engel (1965)].

Premisa fundamentală a acestei ipoteze este integrarea metabolică a unităților motorii. Din acest punct de vedere, într-o unitate motorie normală, sînt posibile două aranjamente: într-un prim aranjament, fiecare celulă nervoasă inervează mai multe tipuri histochimice de fibre musculare, formînd o „unitate mixtă”, iar într-un al doilea aranjament, fiecare celulă nervoasă inervează fibre musculare de un singur tip histochimic, constituind o „unitate uniformă”. La om este posibilă existența ambelor tipuri de unități motorii, dar W. K. Engel (51) înclină să accepte ipoteza unității uniforme. Pornind de la această premisă se poate concepe mecanismul patogenic al miopatiilor și neuropatiilor.

În miopatii, factorii care determină implicarea selectivă a fibrelor musculare dispersate nu sînt cunoscuți. În unele cazuri, ea poate fi explicată prin diferențe metabolice dintre fibre, care determină interesarea lor preferențială. Un asemenea mecanism presupune însă o unitate motorie mixtă, pentru că într-o unitate motorie uniformă, el ar produce o imagine lezională grupată și nu dispersată, care nu ar putea fi deosebită de aceea produsă în neuropatii. În alte cazuri, interesarea selectivă a fibrelor musculare nu poate fi raportată de deosebiri metabolice dintre acestea. În asemenea cazuri, imaginea dispersată a leziunii musculare poate apărea atît în tipul mixt, cît și în tipul uniform de unitate motorie.

În neuropatii, admițînd ipoteza unității motorii uniforme, trebuie să admitem în același timp că influențe specifice ale neuronilor motorii pot determina diferențierea metabolică dintre fibrele musculare, în condiții normale, iar în condițiile mușchiului denervat, implicarea selectivă a unui tip histochimic anumit de fibre musculare, în același timp cu implicarea selectivă a unui tip metabolic distinct de neuron motor. Mai mult, dacă neuronii motori determină uniformitatea fibrelor musculare, o influență neurogenă fundamentală poate interveni în orice „miopatie”, în care un tip histochimic definit de fibre musculare este afectat preferențial.

III. BOLI NEUROLOGICE CU EREDITATE INCERTĂ

Vom exemplifica o ultimă grupă de afecțiuni al sistemului nervos, a căror determinare genetică este incertă prin scleroza în plăci și epilepsie.

1. SCLEROZA ÎN PLĂCI (SCLEROZA MULTIPLĂ SAU MULTILOCLARĂ)

Este una dintre cele mai frecvente boli neurologice. Afecțiune deosebit de interesantă, scleroza în plăci se manifestă clinic printr-o simptomatologie polimorfă, care poate imita orice altă boală a sistemului nervos central, dar în care se realizează de obicei asocierea sindroamelor piramidal, cerebelos și vestibular (paraplegie spastică, tremurătură intențională, nistagmus). În evoluția cronică, intermitentă a bolii, puseuri de agravare alternează, după o modalitate capricioasă și imprevizibilă, cu perioade de remisiune pînă la aparența unei vindecări aproape totale. Din punct de vedere anatomic, scleroza în plăci se caracterizează prin lipsuri mielinice, răspîndite în substanța albă din în-

treg sistemul nervos central, a căror cicatrizare nevrogliă duce în ultimă instanță la constituirea unor plăci de scleroză, de unde denumirea bolii. Etiopatogenia bolii nu este cunoscută. În absența probelor directe în favoarea unei determinări exogene, considerarea rolului eredității în scleroza multiplă apare firească. Din acest punct de vedere se confruntă pînă în zilele noastre două atitudini ipotetice, este adevărat prudente, dar suficient de tranșante: ipotezei determinării ereditare, dar fără excluderea intervenției concomitente a unor factori peristatici, susținută de autorii care consideră că incidența familială a sclerozei în plăci este cu mult mai mare decît la restul populației, și se opune ipoteza determinării exogene, susținută de autorii care apreciază că incidența familială ridicată a bolii nu este reală, ci datorită unor factori metodologici. Într-o revizuire critică a materialului faptic adunat pînă în prezent, rolul eredității în scleroza multiplă este sintetizat de către G. Moya (94). Rezultatele cercetărilor care demonstrează că incidența sclerozei în plăci este mai ridicată în familiile cu bolnavi de scleroză în plăci decît la restul populației sînt foarte diferite, variind de la 2,6% în Danemarca (71), pînă la 11% în Scoția (136) și de aceea dificil de comparat. Fără îndoială că divergența lor se datorește metodelor diferite și uneori insuficient de adecvate prin care au fost culese. Numărul foarte redus al cazurilor familiale de scleroză în plăci cu autopsii multiple, singurele strict probante, nu ne permite deocamdată nici o deducție. Numărul cazurilor acceptabile din punct de vedere clinic este de asemenea redus (în jur de 350), în raport cu miile de cazuri de scleroză în plăci existente. De aceea se poate considera că apariția familială a bolii se datorește mai degrabă hazardului decît eredității. Studiul gemenilor monozigoti nu demonstrează intervenția factorului genetic (137, 87, 9). Lucrările lui Curtius (33, 34, 35), care au stat la baza cercetărilor genetice moderne, comportă prea puține cazuri, iar argumentul „familiei nevropatice” invocat de autorul citat nu mai apare utilizabil în stadiul actual al cunoștințelor despre etiologia și transmiterea elementelor nevropatice. În sfîrșit, analiza genetică a cazurilor publicate nu indică nici o modalitate concludentă de transmitere ereditară a sclerozei în plăci.

În concluzie, din toate cele arătate mai înainte rezultă că astăzi nu se poate vorbi despre ereditatea sclerozei în plăci ci, cel mult despre o predispoziție la boală, asemănătoare cu aceea din tuberculoză. Majoritatea cercetătorilor consideră că această predispoziție favorizează intervenția unor factori de mediu, încă insuficient cunoscuți (infecțioși, toxici, alimentari etc.), care ar produce leziunile sistemului nervos printr-un mecanism neuroalergic.

2. EPILEPSIA

În sfîrșit, o ultimă afecțiune cu ereditate discutată este epilepsia. Frecvența bolii este de aproximativ 3—4/1 000 (144). În general se face deosebirea clinică, electroencefalografică și anatomică între epilepsia subcorticală și epilepsia corticală. Epilepsia subcorticală, centrencefalică, fără substrat anatomic aparent (de unde denumirea de epilepsie genuină sau esențială), se manifestă clinic prin crize de pierdere a cunoștinței însoțite de convulsii tonico-clonice generalizate, iar electroencefalografic prin descărcări paroxistice bilaterale, sincrone și sime-

trice. În epilepsia corticală, cu variate leziuni anatomice (epilepsia secundară) apar manifestări clinice critice localizate, jacksoniene (epilepsie parțială), de obicei fără pierderea cunoștinței, al căror aspect (crize motorii, sensitive, senzoriale, psihice) este condiționat de sediul leziunii anatomice și descărcări electroencefalografice unilaterale, focalizate. Natura exogenă a epilepsiei corticale limitează rolul eredității la epilepsia subcorticală, centrencefalică, genuină. În cercetările familiale, rolul eredității în epilepsie apare mai puțin important. Oricum, o ereditate categorică în epilepsia genuină nu este demonstrată, cu toate rezultatele studierii acestei afecțiuni la gemeni (144).

În încheiere subliniem încă o dată că, în expunerea noastră, nu ne-am referit decât la cele mai importante și interesante afecțiuni ale sistemului nervos, care implică, în determinarea lor, factorul ereditar. Această limitare de subiect ne-a fost impusă atât de specificitatea patologiei neurologice, cât mai ales de marea extindere și profunzime a neurogeneticii în raport de celelalte specialități medicale. Subliniem de asemenea că dintr-o intenție de eficiență am preferat, în ordonarea și dezvoltarea materialului, în locul unei prezentări generale exemplificate, o expunere sistematică raportată la grupe de boli sau boli separate, cu toată aparența enumerativă și puțin atractivă a acesteia din urmă. Oricum, importanța considerabilă a geneticii în patologia neurologică apare cu toată evidența. Chiar dacă neurogenetica nu ne indică astăzi modificări cromozomiale certe, chiar dacă unele tulburări metabolice evidențiate în puține boli ereditare ale sistemului nervos sînt încă insuficient elucidate, chiar dacă în majoritatea afecțiunilor neurologice genetice cunoașterea eredității este deocamdată limitată la modalitățile de transmitere a acestora, aplicarea geneticii la patologia sistemului nervos a făcut posibilă ordonarea nosografică a unui material dispersat și a deschis o perspectivă, în același timp etiopatogenică și terapeutică, ale cărei rezultate, fără îndoială fructuoase, le vom datori viitorului.

BIBLIOGRAFIE

1. Adams C. W. M. — Neurohistochemistry, edit. C. W. M. Adams, Elsevier Publishing Company, Amsterdam-Londra-New York, 1965.
2. Aitken R. S., Allott E. N., Castleden L. S. M., Walker M. — *Clin. Sci.*, 1937, 3, 47.
3. Allan W. — *Arch. intern. Med.*, 1939, 63, 1123.
4. Andrade C. — *Acta neuropath. (Berl.)*, 1963 (Suppl. 2, 3).
5. Arima M., Kamoshita S., Komiya H., Murokawa H. — *Paediat. Univ. (Tokio)*, 1964, 10, 5.
6. Aronson S. M., Aronson B. E., Volk B. W. — *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 1962, III, 664.
7. Austin S. H. — Brain Lipids and Lipoproteins and the Leucodystrophies, edit. J. Folch-Pi și H. Bauer, Amsterdam, 1963.
8. Bagdasar D., Arseni C. — *Traité de neurochirurgie*, Ed. Acad. R.P.R., 1951.
9. Bammer H., Schaltenbrand G., Solcher H. — *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1960, 181, 261.
10. Barbeau A., Murphy G. F., Sourkes T. L. — *Science*, 1961, 133, 1706.
11. Bassen F. A., Kornzweig A. L. — *Blood*, 1950, 5, 381.
12. Bearn A. G. — *Ann. hum. Genet.*, 1960, 24, 33.

13. Becker P. E. — *Dystrophia Musculorum Progressiva: Eine Genetische und Klinische Untersuchung der Muskeldystrophien*, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1953.
14. Becker P. E. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 148.
15. Becker P. E. — *Humangenetik*, vol. V/1, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1966.
16. Bell I. — *The Treasury of Human Inheritance*, Cambridge Univ. Press, Londra, 1943.
17. Bennet J. H. — *Amer. J. hum. Genet.*, 1959, 11, 169.
18. Berter A., Rosengren E. — *Experientia*, 1959, 15, 10.
19. Bessman S. P., Baldwin R. — *Science*, 1962, 135, 789.
20. Bodechtel G. — *Diagnostic différentiel des maladies neurologiques*, Ed. G. Doin, Paris, 1965.
21. Bormant T. — *Acta neurol. scand. (Suppl.)*, 1963, 4, 95.
22. Bosanquet F. D., Daniel P. M., Parry H. B. — *The Structure and Function of Muscle*, vol. III, edit. G. H. Bourne, Academic Press, New York-Londra, 1960.
23. Bourne G. H., Golarz M. N. — *Nature (Lond.)*, 1959, 183, 1741.
24. Brandt S. — *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)*, 1950, 63, 218.
25. Brody I. A., Engel W. K. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1964, 11, 350.
26. Burnet F. M. — *Lancet*, 1965, I, 1141.
27. Cambier J. — *Rev. Prat.*, 1964, 14, 477.
28. Cîmpeanu E., Morariu M. — *Neurologia (Buc.)*, 1969, 4, 313.
29. Charcot J. M. — *Lectures on the Diseases of the Nervous System*, English Transl., edit. G. Sigerson, New Sydenham Society, Londra, 1877.
30. Conen P. E., Murphy E. G., Donohue W. L. — *Canad. med. Ass. J.*, 1963, 89, 983.
31. Conn J. W., Fajans S. S., Louis L. H., Streeten D. H. P. — *Lancet*, 1957, I, 802.
32. Crowe F. W., Schull W. J., Neel J. V. — *A clinical, pathological and genetic study of multiple neurofibromatosis*, Ed. Thomas, Springfield, 1957.
33. Curtius F. — *Multiple Sklerose und Erbanlage*, Ed. G. Thieme, Leipzig, 1933.
34. Curtius F., Speer H. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1937, 160, 226.
35. Curtius F. — *Handbuch der Nervenmedizin*, Mohr und Staehelin, Ed. Springer, Berlin, 1939.
36. Dalinghaus E. A. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1941, 100, 1.
37. Dean G. — *Brit. med. J.*, 1953, 2, 1291.
38. Dean G., Barnes H. D. — *S. Afr. med. J.*, 1959, 33, 246.
39. Denny-Brown D. — *New Engl. J. Med.*, 1964, 270, 1149.
40. Dent T. J., Edwards H., Delhanty O. D. A. — *Lancet*, 1963, II, 484.
41. Diezel P. B. — *Cerebral Lipidoses*, edit. S. N. Cumings, Oxford, 1957.
42. Diezel P. B. — *Modern Scientific Aspects of Neurology*, edit. S. N. Cumings, Oxford, 1960.
43. Doak P. B., Eyre K. E. — *Brit. med. J.*, 1961, 2, 549.
44. Dreyfus I. C., Schapira G., Schapira F., Demos J. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 149.
45. Dubowitz V. — *Brain*, 1964, 87, 707.
46. Dyck, P. J., Lambert E. H., Mulder D. W. — *Neurology (Minneap.)*, 1963, 13, 1.
47. Edgar G. W. F. — *Folia psychia. neerl.*, 1956, 59, 3.
48. Ehringer H., Hornykiewicz O. — *Klin. Wschr.*, 1960, 36, 1236.
49. Engel W. K. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 778.
50. Engel W. K. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 46.
51. Engel W. K. — *Neurohistochemistry*, edit. C. W. M. Adams, Elsevier Publishing Company, Amsterdam-Londra-New York, 1965.
52. Engel W. K., Kossman R. I. — *Neurology (Minneap.)*, 1963, 13, 362.
53. Engel W. K., Eyerma E. L., Williams H. E. — *New Engl. J. Med.*, 1963, 268, 135.
54. Engel W. K., Wanko T., Fenichel G. M. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1964, 11, 22.
55. England A. C., Denny-Brown D. — *Arch. Neurol. Psychiat.*, 1952, 67, 1.
56. Eskenasy J. — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1968, 4, 269.
57. Espinosa R. E., Okihiro M. M., Mulder D. W., Sayre G. P. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 1.



58. Fenichel G. M., Shy G. M. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1963, 9, 237.
59. Friedreich N. — *Virchows Arch. path. Anat.*, 1863, 26, 391.
60. Gamstorp I. — *Acta Paediat. (Suppl.)*, 1956, 108.
61. Gamstorp I. — *Rev. Prat.*, 1964, 14, 527.
62. Gajdusek D. C., Zigas V. — *New Engl. J. Med.*, 1957, 257, 974.
63. Gaupp R. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1940, 170, 108.
64. Gaupp R. Jr., Kalden O. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1942, 174, 194.
65. Glanville E. V. — *Pathology of the Nervous System*, edit. Minckler, Ed. Mc.Graw-Hill, 1968.
66. Golarz M. N., Bourne G. H., Richardson V. D. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 9, 132.
67. Haberlandt W. F. — *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1959, 180, 55.
68. Hagberg B. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 131.
69. Hayward M. D., Bower B. D. — *Lancet*, 1960, II, 844.
70. Heidenheim M. — *Beitr. path. Anat.*, 1918, 64, 198.
71. Hyllested K. — *Disseminated sclerosis in Denmark, Prevalence and geographic distribution*, Ed. J. Jørgensen, Copenhagen, 1956.
72. Huntington G. — *Med. Surg. Reporter (Philad.)*, 1872, 26, 317.
73. Iantz H. — *Nervenarzt*, 1947, 18, 360.
74. Ionăşescu V., Roşianu C., Maria Drinca-Ionescu — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1967, 3, 165.
75. Ionăşescu V., Roşianu C., Maria Drinca-Ionescu — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1967, 5, 327.
76. Iatzkewitz H. — *Z. Physiol. Chem. (Hoppe-Seyler)*, 1958, 311, 279.
77. Kahlke W., Richterich R. — *Amer. J. Med.*, 1965, 39, 237.
78. Kiloch L. G., Nevin S. — *Brain*, 1951, 74, 115.
79. Klein D. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 150.
80. Koch G. — *Humangenetik*, vol. 1, edit. P. E. Becker, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1966.
81. Kreindler A., Ionăşescu V., Drinca-Ionescu M. — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1964, 9, 401.
82. Kugelberg E., Welander L. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1956, 75, 500.
83. Kurland L. T., Mulder D. W. — *Neurology (Minneap.)*, 1955, 4, 355.
84. Kurland L. T., Darel R. W. — *Int. J. Neurol (Montevideo)*, 1961, 2, 11.
85. Landing B. H., Freiman D. G. — *Amer. J. Path.*, 1957, 33, 1.
86. Laplane D. — *Rev. Prat.*, 1964, 14, 557.
87. Makay R. P., Myrianthopoulos N. C. — *Proceedings I Internat. Congress Neurol. Sciences*, Pergamon Press, Londra, 1959.
88. Marie P. — *Sem. méd. (Paris)*, 1893, 13, 444.
89. Marinescu G., Drăgănescu S., Vasiliu D. — *Encephale*, 1931, 26, 97.
90. McArdle B. — *Clin. Sci.*, 1951, 10, 13.
91. McGregor G. A., Shaper A. G. — *Brit. med. J.*, 1957, 1, 917.
92. Mellick R. S., Mahler R. F., Hughes B. B. — *Lancet*, 1962, 1, 1045.
93. Merzbacher L. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1910, 3, 1.
94. Moya G. — *Acta neurol. belg.*, 1962, 62, 40.
95. Morariu M., Țăranu Al. — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1968, 6, 441.
96. Morton N. E., Chung-C. S. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 153.
97. Munsat Th. L., Pousaint A. F. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 413.
98. Nevin S. — *Quart. J. Med.*, 1936, 5, 51.
99. Nevin N. C., Cumings J. N., Mckeowin F. — *Brain*, 1967, II, 419.
100. Nelson E., Aurebeck G., Osterberg K., Berry J., Jabour S. T., Bornhofen J. — *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1963, 22, 414.
101. Norman R. M. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 133.
102. Norman R. M., Tingey A. H. — *Sudanophil, leucodystrophy and Pelizaeus — Merzbacher, Brain Lipids and Lipoproteins and the Leucodystrophies*, edit. J. Folch-Pi, H. Bauer, Amsterdam, 1963.

103. Norris Jr. F. H. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 208.
104. Okinaka S., Kumagai H., Ebashi S. — *Arch. Neurol.*, 1961, 4, 520.
105. Patau K., Therman E., Smith D. W., Inhorn St. L., Picken B. F. — *Amer. J. hum. genet.*, 1961, 13, 287.
106. Pearson C. M., Rimer D. G., Mommaerts W. F. — *Amer. J. Med.*, 1961, 30, 502.
107. Pedersen B. — *Sem. de Gen. hum. appliquée*, Copenhaga, 1964.
108. Pendefunda Gh. — *Raport la Consfătuirea: „Boli neuromusculare cu determinism genetic”*, București, 1968.
109. Pelizaeus F. — *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 1885, 16, 658.
110. Poser C. M. — *Cerebral Sphingolipidoses*, edit. S. M. Aronson și B. W. Volk, New York, 1962.
111. Poskanzer D. C., Kerr D. N. S. — *Amer. J. Med.*, 1961, 31, 328.
112. Pratt R. T. C. — *The Genetics of Neurological Disorders*, Oxford, 1967.
113. Reed T. E., Neel J. V. — *Amer. J. hum. genet.*, 1959, 11, 107.
114. Rimington C. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 101.
115. Russell D. S. — *J. Path. Bact.*, 1953, 65, 279.
116. Sagild U. — *Hereditary transient paralysis*, Munksgaard, Copenhaga, 1959.
117. Sagild U. — *Acta med. scand.*, 1963, 173, 329.
118. Saldanha P. H., Bergak W. — *Acta Genet. (Basel)*, 1963, 13, 67.
119. Salt H. B., Wolff O. H., Lloyd J. K., Fosbrooke, Cameron A. H., Hubble D. V. — *Lancet*, 1960, I, 325.
120. Satoyoshi E., Suzuki Y., Aiu T. — *Neurology (Minneap.)*, 1963, 12, 24.
121. Schmid R., Manler R. — *J. clin. Invest.*, 1959, 38, 2 044.
122. Schmid R., Hammaker L. — *New Engl. J. Med.*, 1961, 264, 223.
123. Schumacher G. A. — *New Engl. J. Med.*, 1960, 262, 969.
124. Seitelberger F. — *Brain Lipids and Lipoproteins and the Leucodystrophies*, edit. J. Folch-Pi, H. Bauer. (EDS), Amsterdam, 1963.
125. Shinosari T. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1926, 100, 564.
126. Shy G. M., Magee K. R. — *Brain*, 1956, 79, 610.
127. Shy G. M., Wanko T., Rowley P. T., Enge A. G. — *Exp. Neurol.*, 1961, 3, 53.
128. Shy G. M., Engel W. K., Somers S. E., Wanko T. — *Brain*, 1963, 86, 793.
129. Sjögren T. — *Confin. neurol. (Basel)*, 1950, 10, 293.
130. Sjögren T., Larsson T. — *Acta psychiat. scand. (Suppl.)*, 1957, 113, 32.
131. Spiegel-Adolf M., Baird H. W., Szekely E. G., Coleman H. S. — *Confin. neurol. (Basel)*, 1960, 20, 343.
132. Stark P. — *J. Génét. hum.*, 1958, 7, 1.
133. Sternlieb I. — *Bull. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1965, 116, 859.
134. Stevenson A. C. — *Ann. Eugen. (Lond.)*, 1953, 18, 50.
135. Svennerholm L. — *Brain Lipids and Lipoproteins and the Leucodystrophies*, edit. J. Folch-Pi și H. Bauer, Amsterdam, 1963.
136. Sutherland T. M. — *Brain*, 1958, 79, 635.
137. Thums K. — *Nervenartz*, 1939, 12, 463.
138. Tingey A. H., Edgar G. W. F. — *J. Neurochem.*, 1963, 10, 817.
139. Tridon P. — *Les dysraphies de l'axe nerveux et de ses enveloppes cranio-rachidiennes*, Ed. G. Doin, Paris, 1959.
140. Tyler F. H., Wintrobe M. M. — *Ann. intern. Med.*, 1950, 32, 72.
141. van Bogaert L. — *J. Génét. hum.*, 1952, 1, 6.
142. van Bogaert L. — *Maladies nerveuses génétiques d'ordre métabolique*, Liège, 1962.
143. Voiculescu V. — *Culegere de studii și monografii de neurologie*, Ed. Acad. R.P.R., 1959.
144. von Verschver O. F. — *Genetik des Menschen, Lehrbuch der Human-Genetik*, Urban und Schwarzenberg, München-Berlin, 1959.

145. Waldenström J. — *Acta genet. (Basel)*, 1956, 6, 122.
146. Waldenström J. — *Amer. J. Med.*, 1957, 22, 759.
147. Walton J. N., Nattras F. J. — *Brain*, 1954, 77, 169.
148. Watson C. J. — *Diseases of metabolism*, edit. G. G. Duncan, Ed. W. B. Saunders, Philadelphia — Londra, 1964.
149. Welander L. — *Acta med. scand. (Suppl.)*, 1951, 141, 265.
150. Westphal C. — *Berl. klin. Wschr.*, 1885, 22, 489.
151. Williams R. D. B., Ling Tang J. — *Amer. J. Dis. Child.*, 1960, 100, 924.
152. Witkop C. J., Henry F. V. — *J. Speech Dis.*, 1963, 28, 109.
153. Wohlfart G. — *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1951, 10, 109.

GENETICA ÎN PSIHI- ATRIE

Aurelia Sîrbu

Genetica a găsit totdeauna un larg răsunet în psihiatrie, pentru că pe de o parte psihiatrii erau dornici de argumente acolo unde aveau numai ipoteze, iar pe de altă parte pentru că geneticienii se simțeau ispitiți să descifreze secretele lui *homo sapiens*, în compartimentul său cel mai specific. Psihiatria oferă geneticienilor o situație particulară, deoarece în ea confluează datele biologiei cu ale psihologiei, în ea biochimia se alătură ciberneticei, iar sociologia, artei. Poziția psihiatriei a servit de multe ori ca probă de rezistență teoriilor asupra omului, iar bolile psihice au demonstrat suferința, alienarea, dezadaptarea și incompatibilitatea în cel mai înalt grad al specificității umane.

Progresele genetice nu au fost urmate în paralel de progresele psihiatriei; proporția a rămas aproximativă, deoarece aici mai mult ca oriunde în medicină, ereditatea stă față în față cu mediul, celebra controversă „*nature-nurture*” (natură-hrană) rămânând mereu valabilă.

Sîntem cu toți bucuroși de noile cuceriri ale geneticei moleculare moderne, dar sîntem în același timp conștienți și de limitele cunoștințelor noastre actuale atunci cînd subliniem necunoscutele sau rămînem rezervați în fața unor ipoteze prea îndrăznețe. Este adevărat că genetica, prin noile sale date, a demonstrat corelația potențialelor energetice care contribuie la ansamblul structural al ființei umane, dar distanța între cunoștințe și realitate mai permite încă existența unui „clivaj”, unde încap o serie de teorii atractive, dar insuficient fondate. „Balanța genelor” coordonează meticulos funcționalitatea organismului în vederea permanentei sale integrări sub forma homeostaziei, a echilibrului, a adaptabilității (2). Descoperirea genelor intermediare, alături de cele dominante și receptive, a îmbogățit înțelegerea transmiterii multifactoriale și existența fenomenelor cumulative care stau la baza dinamismului genetic uman.

Studiul genetic al persoanelor geniale a reliefat prezența înclinațiilor, a aptitudinilor particulare (mai ales cînd este vorba de talente) și de ceilalți membri ai familiilor respective, ceea ce pledează pentru transmiterea lor ereditară. Tot genetica ajută la explicarea întreruperii survenite uneori la transmiterea unui talent, cum a fost cazul tradiției muzicale din familia Bach; se crede că această întrerupere s-ar datori unei căsătorii cu persoane lipsite de talent muzical sau chiar cu purtătorii unor gene recesive pentru surditate. Astăzi cîștigă

din ce în ce mai mult teren presupunerea că și alte particularități ale persoanei umane, cum ar fi rapiditatea și corecta orientare într-un spațiu nou, ar fi legate de prezența unui factor integrator transmis ereditar. Tot genetica este capabilă să înlăture și eroarea ipotezei care lega genialitatea de boala mintală; studiile pe familiile de artiști au constatat că nu există o proporție crescută, „o ereditate încărcată” de boli psihice în aceste cazuri comparativ cu populația obișnuită (2, 5, 8).

Investigațiile genetice în psihiatrie sînt greoaie și îndelungate; cifrele de comparație oscilează de multe ori de la o țară la alta, de la un autor la altul; sistematizarea nosologică suferă și ea influențe considerabile, după cum autorii respectivi sînt adepții unei clasificări sau a alteia. Din aceste motive există încă multe imprecizii, care nu permit extinderea unor cercetări sau sintetizarea lor într-un numitor comun, valabil pentru bolile psihice. Deocamdată sîntem lipsiți de aparatura tehnică necesară în comparație, de exemplu, cu hematologii sau virusologii iar particularitățile structurale ale psihicului uman sînt destul de greu de cuprins în parametrii metodelor contemporane.

Modul de transmitere a caracterelor reclamă pentru genetica umană mai multe elemente decît cele furnizate de mendelismul simplu, chiar dacă îl suplimentăm cu o serie întreagă de explicații și excepții (10). Genele, de asemenea, își exercită influența lor asupra întregii vieți. Similar enzimelor, ele pot accelera, întârzia sau modifica mersul proceselor biochimice. În viață sîntem mereu sub influența lor, deși nu ajung niciodată să-și manifeste în întregime potențialul disponibil. S-a calculat astfel că fiecare persoană poartă un minimum de 8 gene recesive patologice care, la rîndul lor, suferă neconținut modificări sub influența mediului ambiant.

Răsunetul „teoriei psihozei unice”, lansată de școala germană, s-a resimțit și în cercetările genetice, unde s-a încercat găsirea unor argumente care să pledeze pentru ștergerea limitelor nosografice din psihiatrie, tablourile clinice psihopatologice urmînd a fi considerate drept varietăți ale unor factori nocivi comuni, cu intensitate de acțiune diferită. Studiile pe familii cu bolnavi psihici au dovedit netemeinicia unor atari afirmații, cercetările genetice făcute în acest sens demonstrînd existența unei diferențe de specificitate și nu numai de gravitate în transmiterea bolilor psihice.

În psihiatrie, genetica ilustrează o serie de probleme-cheie, din înțelegerea psihopatologiei umane; pentru aceasta, am ales cîteva capitole mai demonstrative, după cum urmează:

I. *Oligofrenia*, cadru unde s-au resimțit din plin noile cercetări de genetică. Datorită lor a fost posibilă delimitarea unor entități etiologice și înțelegerea unor mecanisme metabolice care stau la baza deficitelor intelectuale.

II. *Psihozele senile*, al căror număr în creștere reclamă cercetări genetice noi și pe baza lor o înțelegere mai clară a omului în perioada vîrstei înaintate.

III. *Psihoza periodică* servește drept ilustrare pentru unitatea și integrarea datelor genetice în analiza modificărilor psihopatologice.

IV. *Schizofrenia* demonstrează marile controverse care frămîntă psihiatria contemporană și incertitudinea, relativitatea unor interpretări genetice.

V. *Psihopatiile* constituie domeniul în care genetica este confruntată cu factorii social-culturali în precizarea etiopatogeniei.

I. OLIGOFRENIA

Este denumirea uneia din cadrele nosografice cele mai vechi din psihiatrie și în care numitorul comun al simptomatologiei este alcătuit din insuficiența dezvoltării funcțiilor cognitive. S-ar putea ca Baret să fi exagerat când a apreciat că 90% din inteligență se datorește genelor; în tot cazul, el a subliniat însă în deplin acord cu psihologii că ponderea cea mai mare în inteligență o au factorii genetici. Pornind de la acest fapt, psihologii pot, ca, studiind atent familia, să facă o serie de aprecieri prognostice referitoare la coeficientul inteligenței descendenților. Unii autori au redus proporția eredității la 60%, subliniind că factorii de mediu pot să aibă un rol considerabil, chiar și în domeniul sferei cognitive, ajungând să „corecteze” natura cu 20—30%. „Genele — spune G. Murphy — au stabilite potențiale inexorabile, dar ceea ce se va realiza din aceste potențiale depinde în mare măsură de circumstanțele de dezvoltare; să nu uităm însă că în același timp și influența mediului este limitată de potențialele genetice” (9).

De la început s-a reliefat cu ușurință în fața cercetătorilor eterogenitatea oligofreniei. Aici sînt grupate toate bolile endogene și exogene care produc insuficiențe în dezvoltarea proceselor cognitive, boli care sînt studiate de psihiatri, neurologi, geneticieni, pediatri, endocrinologi, psihologi. Criteriile de clasificare folosite de psihiatri și psihologi sînt non-etilogice, ceea ce face pe unii autori să vorbească de sindromul oligofreniei. Ținîndu-se seama de intensitatea tabloului fenomenologic, s-a vorbit de debilitate mintală, imbecilitate și idioție, iar în prezent la sugestia autorilor francezi se folosesc termenii de oligofrenie simplă sau ușoară și oligofrenie profundă sau gravă.

Etiologia cîștigă teren, în cadrul oligofreniei desprinzîndu-se o serie de factori cauzatori și conturîndu-se în felul acesta noi boli. Diversitatea mare a agenților nocivi pledează însă pentru existența unei poligenii în transmiterea inteligenței și pentru o strînsă interferență între funcțiile psihice, neurologice și endocrine.

Pînă în prezent, etiologia cunoscută în oligofrenie acoperă 10—30% din totalul cazurilor. Desigur că cifra nu este prea mare, dar progresele actuale din genetică și din biologia moleculară îndreptătesc speranțele în vederea descoperirii a noi și noi factori cauzatori.

Cercetările electroencefalografice din oligofrenie pledează și ele pentru natura ereditară a acestei stări morbide; cu ajutorul lor s-a evidențiat (similar cu epilepsia) trasee cu modificări ale biocurenților cerebrali, care sînt asemănătoare și uneori chiar identice la membrii aceleiași familii de oligofreni.

Riscul morbidității în populație este în general de 1%; se crede că oligofrenia se transmite recesiv și foarte probabil prin gene legate de sex, ceea ce ar explica numărul mai mare de bărbați observat decît de femei. Apariția unei aglomerări de gene în familiile de oligofreni, demonstrează că mariajele nu se fac la întîmplare, cum s-a crezut multă vreme; analizele psihometrice au găsit o serie întregă de asemănări considerabile ale coeficientului de inteligență a soților (5).

Cifrele generale care apar în studiile pe oligofreni sînt următoarele:

- 15% (13—18%), cînd părinții au o inteligență normală;
- 40% (33—43%), cînd un părinte este oligofren;
- 90% (82—94%), cînd ambii părinți sînt oligofreni.

Una dintre cele mai cunoscute lucrări pe gemeni în acest domeniu aparține școlii din München. Juda a constatat o concordanță de 100% la MZ și de 58% la DZ. În schimb, Rosanoff pe un material similar a găsit numai 91% concordanță pentru MZ și 53 pentru DZ.

Windenskow a împărțit cazurile de oligofrenie după gravitatea deficitului de inteligență în două grupuri: grupul A — oligofrenie ușoară; grupul B — oligofrenie gravă. La grupul A a găsit că 51% a rudelor aveau un coeficient de inteligență scăzut, pe cînd în grupul B cifra era numai de 12%. Explicația acestei diferențe însemnate s-ar găsi în faptul că oligofrenia gravă de foarte multe ori este cauzată de factori externi.

S-a propus de asemenea o nouă clasificare a oligofreniei, ținîndu-se seama de importanța factorilor genetici (4), după cum urmează:

- oligofrenie cu factori genetici neidentificați;
- oligofrenii dismetabolice;
- oligofrenii cromozomiale.

a) Grupul oligofreniei cu factori genetici neidentificați rămîne deocamdată cel mai numeros. Se crede, pe baza studiului pe familii și pe gemeni, că există o transmitere ereditară, evidențiată de corelația strînsă dintre coeficientul de inteligență a părinților și a copiilor și de concordanța aproape totală observată la gemeni monoziгоți.

b) Studiile biochimice au permis identificarea oligofreniilor dismetabolice, oligofrenii datorite unor gene anormale dominante sau recesive care intervin în mecanismul intim al organismului. Afecțiunile metabolice în care se găsește oligofrenia ca unul din complexe simptomele de mare constanță sînt următoarele (6):

- Tulburări ale metabolismului lipidic: boala Tay-Sachs; boala Niemann-Pick; boala Gaucher; gargoilismul etc.
- Tulburări ale metabolismului glucidic: galactosemia; boala Gierke etc.
- Tulburări ale metabolismului aminoacizilor: fenilcetonuria; leucinoza etc.

Bolile dismetabolice ilustrează cît de diferite sînt mecanismele etiopatogenice care se repercutează asupra dezvoltării normale a inteligenței. Succesele noi terapeutice permit oprirea și prevenirea chiar a instalării unei oligofrenii (oligofrenia fenilpiruvică, galactosemia).

c) Grupul oligofreniilor datorite aberațiilor cromozomiale au progresat în înțelegere o dată cu noile metode de studiu al cariotipului. În general, la 200 de nou-născuți, unul prezintă aberații cromozomiale identificabile cu tehnica actuală; iar din totalul aberațiilor cromozomiale cunoscute, 2/3 privesc cromozomii sexuali (2).

Unii cercetători entuziasmați de rezultatele obținute în această direcție speră că prin analiza cariotipului pe o scară mai largă se vor putea decela în continuare multe cazuri de oligofrenie cu aberații cromozomiale.

Boala Down are a bogată bibliografie, ea fiind una dintre bolile cromozomiale cel mai bine cunoscute. Aici se insistă mereu și pe bună dreptate asupra importanței considerațiilor genetice. Când boala Down (trisomia 21) se datorește lipsei de disjuncție a cromozomului, riscul mamei de a mai avea un copil bolnav este de 1:600 similar cu riscul din populație; el însă devine de 1:3 când trisomia se datorește unei translocări. Cunoașterea cariotipului, mai ales la femeile tinere, poate aduce astfel servicii mari (10).

Din rândul bolilor cromozomiale mai fac parte boala Turner, boala Klinefelter, trisomia cromozomului X, afecțiuni binecunoscute de geneticieni și pediatri, în descrierea simptomatologică a cărora, oligofrenia de intensitate variabilă ocupă un loc important (3).

În ultimii ani, făcându-se sinteza particularităților simptomatologice întâlnite în cadrul bolilor cromozomiale, s-a observat că aberațiile cromozomiale ale autozomilor sînt însoțite fără excepție de oligofrenii; în schimb, în cazul aberațiilor cromozomilor sexuali care nu determină în mod obligatoriu oligofrenia, s-a observat foarte frecvent prezența tulburărilor comportamentale și nevrotice, cu toate că încă nu se pot face corelații precise între tulburările metabolice, aberațiile cromozomiale și tabloul simptomatologic observat (10).

II. PSIHOZE SENILE

Psihozele senile au intrat destul de tîrziu în centrul preocupărilor genetice, deși anatomopatologii și-au făcut încă de la începutul secolului un titlu de glorie descriindu-le particularitățile.

La început, psihozele senile au fost considerate ca procese normale de îmbătrînire și tratate ca atare. Mai tîrziu, o dată cu dezvoltarea gerontopsihiatriei, s-a remarcat contribuția factorilor ereditari în declanșarea acestor boli. Prolungirea duratei medii de viață, a suscitat un interes față de studiul psihozelor senile. Deocamdată se consideră că în cadrul psihozelor senile, factorii ereditari se pot găsi în 3 ipostaze diferite (13) și anume:

- influențînd în așa măsură starea de sănătate dinaintea apariției psihozei senile, încît individul să sufere o serie de transformări somatice și psihice;
- reprezentînd însăși factorii cauzatori ai psihozelor senile;
- influențînd patologia bătrîneții.

Cercetările pe gemeni au reliefat o strînsă concordanță între forma psihozei senile și evoluția sa pentru vîrsta de 60—75 de ani. Cifrele de concordanță sînt mai scăzute decît în alte boli ereditare psihice (43% pentru monoziгоți și 6—8% pentru dizigoți). În familiile bolnavilor s-au găsit în schimb un mare număr crescut de psihoze senile față de riscul general al îmbolnăvirii din populație. În studiile cromozomiale din psihozele senile s-au pus în evidență o serie de modificări particulare, care ar putea fi identificabile numai în psihozele senile. Deocamdată însă mecanismul biochimic nu este elucidat; se pare că atrofiile corticale presenile și senile s-ar datora unor gene dominante și unor gene intermediare.

Boala Pick, greu de diagnosticat la debutul ei a fost obiectul de cercetare a unor geneticieni suedezi (Sjögren, 1962), care au calculat că 19% din părinți

și 90% din rudele bolnavilor prezintă manifestări în mare parte asemănătoare. Aceasta ar permite supoziția unei transmisibilități ereditare; afecțiunea s-ar datori unei gene autozomale dominante cu penetrație redusă.

Boala Alzheimer este destul de bine diferențiată anatomoclinic; mai recent, se crede că s-ar datori unei transmiteri multifactoriale și nu unei gene autozomale dominante, cum se susținea la început (13).

Sindroamele dementiale din cadrul psihozelor senile oferă un alt model patologic al proceselor cognitive, legat de ereditate; factorii ereditari contribuie nu numai la deplina dezvoltare a funcțiilor de cunoaștere, ci în mare măsură și la păstrarea integrității acestor procese psihice, care stau la baza culturii și civilizației omenirii.

În anul 1968, demența senilă a fost catalogată ca o boală ereditară, cauzată de o genă dominantă autozomală unică și cu o penetrație în creștere proporțională cu vârsta (10). Corelația demenței senile cu boala Alzheimer, boala Pick și cu ateroscleroza cerebrală este discutabilă; pînă în prezent, studiile pe familii nu au dat cifre concludente (13, 15).

III. PSIHOZA MANIACODEPRESIVĂ

Psihoza periodică are un cadru bine delimitat și o literatură unitară, ceea ce a permis geneticienilor să opereze aici pe un teren sigur. Studiile de la începutul secolului au fost repede confirmate de cercetările contemporane. La început se credea că psihoza periodică este o boală ereditară recesivă care s-ar transmite printr-o genă legată de sex, fapt care ar explica numărul mai mare de femei. În deceniul precedent s-a arătat însă că psihoza periodică se transmite dominant, iar argumentul principal l-a constituit numărul de cazuri întâlnite în familiile bolnavilor în comparație cu populația în general. Dacă în populație riscul îmbolnăvirii este de 0,4—1%, el ajunge la rudele colaterale la 16,70%, la rudele apropiate la 22,70%, la părinți la 23,40%, iar la copii la 24,50% (5).

Concordanța la gemenii monoziгоți pentru psihoza maniaco-depresivă este de 60%, iar la gemenii dizigoți de 31%. Lader și Russel citează un caz mai rar, de 3 gemene care au prezentat toate o psihoză periodică.

Cercetările întreprinse în cadrul O.M.S. (10) au subliniat transmiterea ereditară dominantă cu penetrație incompletă pentru psihoza maniaco-depresivă. În favoarea unei gene dominante și a unei constelații poligenice pledează și faptul că persoanele care fac parte din familia bolnavului poartă amprenta particulară a acestei psihoze prin prezența unor trăsături caracteristice: dispoziție afectivă oscilantă, hipomanie, depresiune. Potențialitatea genetică a acestei psihoze se datorește unui genotip specific, genotip care ar tulbura controlul neurohormonal al vieții afective și mai ales al posibilității de a da răspunsuri emoționale extreme (2). În terapia modernă antidepresivă cu timoanaleptice s-a pus deja în evidență existența unor particularități de răspuns care probabil țin tot de structura genetică a persoanelor tratate.

Melancolia de involuție mai ocupă încă o poziție discutabilă, unii autori incluzînd-o în psihoza periodică, alții alăturînd-o psihozelor presenile. De-

oarece la rudele bolnavilor există un risc de două ori mai mare de îmbolnăvire decât în cadrul populației în general, aceasta ar pleda pentru atașarea melancoliei de involuție la psihoza periodică, ipoteză încă insuficient argumentată în fața unor particularități psihopatologice care îndreptățesc autonomia sa (14).

IV. SCHIZOFRENIA

Ereditatea în schizofrenie a făcut obiectul unor cercetări îndelungate; aici abundă controversile, pentru că analiza datelor obținute trebuie făcută pe două coordonate ele însele încă insuficient precizate: cadrul și limitele schizofreniei pe de o parte, evoluția și formele sale clinice pe de altă parte.

Ultimul deceniu a excelat în publicații despre schizofrenie. Cu toate acestea, cercetările de genetică nu au ajuns prea departe în acest domeniu, în care proporțional cu alte aspecte, ele ocupă un loc modest și se bazează pe un număr relativ restrâns de cazuri. Motivația trebuie căutată în munca extrem de laborioasă pe care o necesită genetica modernă în abordarea psihopatologiei.

Pentru a fundamenta vechiul deziderat al organiciștilor, geneticienii s-au străduit să demonstreze originea ereditară a schizofreniei, bazându-se pe studiul familiilor, al gemenilor și al copiilor cu părinți schizofrenici.

Complexitatea mecanismelor etiopatogenetice ale schizofreniei a vizat mereu factorii genetici și social-familiali, înclinând când în favoarea unora, când în a altora, după părerea autorilor care le prezentau. Cercetările biochimice de mare speranță în schizofrenie au reliefat o „vulnerabilitate genetică primară”, vulnerabilitate manifestată într-un deficit de coordonare a sistemului reactiv al organismului. Acest deficit s-ar datori:

- incapacității celulei (sistemului) hepatice de a reține și a transforma substanțele toxice;
- prezenței unei erori metabolice în ciclul feniltiazină;
- existenței unui blocaj sinaptic cu fenomene secundare stimulatorii;
- apariției unei toxicoze taraxeinice.

În planul noilor cercetări genetice este în curs de elaborare argumentația pentru prezența unei tulburări genetice specifice de ordin metabolic, care ar produce dezagregarea personalității, autismul, derealizarea. Se speră că studiile substanțelor halucinogene ar putea fi de mare folos în această direcție. În schizofrenie ar exista o insuficiență reglatoare ereditară (7), care modifică funcțiile de angrenaj unitar al formațiunilor diencefalice, mezencefalice și reticulare și care ar avea fără îndoială grave repercusiuni asupra circuitelor corticale cerebrale.

Leonhard (1832), găsind schizofrenie în familiile cu psihoze atipice, a susținut existența unei gene dominante cu manifestări variabile. Böök (1953) atribuie schizofrenia unei gene recesive, care se manifestă preponderent la homozigoți și la 20% dintre heterozigoți. Transmiterea recesivă a dus la observația atentă a heterozigoților, la care s-au remarcat trăsături schizoide. Numărul crescut de schizofrenie și personalitate schizoidă găsite în grupurile izolate poate fi atribuit consanguinității mărite și mediului ostil de existență, în care oportunitatea unei comunicări, a unei vieți sociale este redusă la minimum,

Există o serie de autori care nu cred că transmiterea schizofreniei s-ar face recesiv, deoarece numai 40% dintre copii cu părinți schizofreni fac această psihoză; dacă schizofrenia ar depinde de o genă recesivă, atunci copiii dintr-un cuplu de schizofreni, fiind homozigoți, ar trebui să fie cu toții schizofreni. Or, cifra de 40% demonstrează mai degrabă că schizofrenia depinde fie de o varietate de gene, fie de o genă dominantă cu penetrație diminuată. Într-un studiu pe 355 schizofrenici internați, s-a constatat că numărul schizofreniei crește printre copiii a căror părinți sînt înrudiți, ceea ce ar însemna că cel puțin 1/6 din schizofrenici pot demonstra o transmitere recesivă (5).

Argumentele prezentate sînt deocamdată insuficiente pentru a exclude caracterul dominant al transmiterii, dar și pentru a opta cu certitudine pentru cel recesiv. Aceasta cu atît mai mult, cu cît unii autori continuă să creadă în monogene, pe cînd alții presupun că ereditatea schizofreniei se sprijină pe un număr variabil de gene, care ar putea atinge cifra de 125. Imprecizia aceasta se datorește și impreciziei diagnosticului de schizofrenie: în unele publicații se observă la o analiză mai amănunțită că numai 1/5 din cazuri erau psihoze adevărate, restul fiind stări schizoide eronat considerate de unii autori drept forme latente ale psihozei discordante.

Studiile pe gemeni au complicat și mai mult controversile. Probabilitatea îmbolnăvirii gemenilor dizigoți este de 14,5, aproape egală cu a fraților și surorilor, care este de 14,3. Aici, ca în toate bolile genetice de altfel, gemenii dizigoți de același sex au un risc sensibil crescut față de cei de sexe diferite, fapt valabil și pentru frații și surorile bolnavului. Apariția schizofreniei la gemeni monoziigoți oferă date semnificative pentru susținerea bazei genetice a schizofreniei. Debutul afecțiunii la gemenii monoziigoți se face la un interval de 2 ani unul de altul. Dacă însă acești gemeni au trăit separat unul de altul cel puțin 5 ani înainte de îmbolnăvire, riscul apariției psihozei discordante pentru al doilea gemen scade de la 91,5% la 77,6% (5, 13).

Dacă schizofrenia apare numai la unul dintre gemenii monoziigoți sau dizigoți, nu este deloc sigur că va apare la cel mai slab, mai astenic, mai longilin, ceea ce exclude o corelație exclusivă cu constituția leptosomică. Un studiu pe 3 gemeni, publicat în 1952, arată că cele 2 fete gemene au făcut schizofrenie, pe cînd fratele geamăn a rămas sănătos (5). Observarea a 3 gemeni de același sex (băieți) a constatat că toți au făcut schizofrenie.

Cu toate acestea, există încă mulți sceptici care consideră că evidențele sînt prea reduse ca număr, iar cercetările pe gemeni ar putea să sugereze și numai o predispoziție, astfel că argumentele geneticienilor nu constituie încă o bază suficient de solidă pentru o teorie ereditară a schizofreniei (13, 14).

Mult discutata concordanță și ilustrarea cifrelor probatorii pentru ereditatea schizofreniei nu sînt chiar așa de evidente, dacă ne gîndim că și factorii nocivi acționează în același timp asupra întregii familii; ei pot fi și trebuie incluși în etiopatogenia schizofreniei. De aceea s-a lansat și termenul de pseudoereditate pentru schizofrenie. Observațiile nu vor să excludă valoarea datelor genetice pentru schizofrenie; ele vin doar să tempereze elanul acelor care ar exagera acești factori, uitînd de rest, pentru că deocamdată în schizofrenie nu dispunem de certitudinea unor date similare cu oligofrenia sau cu

psihoza periodică, ceea ce nu înseamnă deloc că cercetările trebuie abandonate. Speranța unor precizii se întrezărește într-un viitor destul de apropiat.

Genetica a fost folosită în schizofrenie și pentru demonstrarea independenței unor forme clinice, ipoteză deocamdată criticabilă (15), deși s-a găsit în formele nucleare de schizofrenie un implicat ereditar mai scăzut (34%) decât în formele atipice (50%), forme de altfel cu un prognostic mai favorabil. Tot în acest sens s-a constatat că forma paranoidă are un risc ereditar mult mai redus decât schizofrenia hebefrenă sau catatonică. Concordanța dintre studiile pe gemeni este mai mare în schizofrenia catatonică și hebefrenică decât în schizofrenia paranoidă. S-a mai remarcat că asemănarea tabloului psihopatologic prezentat de gemeni crește o dată cu cronicizarea bolii, cu toate că există și suficiente exemple de perechi de gemeni în care schizofrenia a luat forme diferite la unul și la altul dintre ei. În schimb, nu s-a constatat încă niciodată că în cadrul gemenilor, unul să facă schizofrenie, iar altul psihoză maniaco-depresivă.

Cu toate că în materie de genetică în schizofrenie, Kallmann rămâne autoritatea cea mai recunoscută (2), datele sale au fost cu greu corelate cu ale altor cercetători, pentru că diagnosticul său de schizofrenie include multe forme atipice, nevrotice, afective, comportamentale. Lucrările sale au fost criticate de Bellak pentru cadrul prea larg acordat schizofreniei și de Kölle care consideră cifrele lui Kallmann prea reduse spre a putea susține o ereditate recesivă (13, 15).

Aceste controverse oglindesc suficient incertitudinea care domnește încă.

În populație, riscul a fost calculat la 1—2%; cifrele sînt mai ridicate pentru grupurile izolate sau cu consanguinitate crescută (Suedia, Japonia).

În 1967 a apărut în S.U.A. o lucrare interesantă pentru genetica schizofreniei. S-au studiat două loturi comparative de schizofrenie: unul cuprinzînd cazurile de schizofrenie din perioada 1934—1936, perioadă dinaintea apariției medicamentelor psihotrope și altul din perioada 1954—1956 care a beneficiat de chimioterapia antipsihotică actuală. Erlenmayer a arătat că femeile schizofrenice se căsătoresc mai frecvent decât bărbații schizofrenici (43 la 23), ceea ce înseamnă că în antecedentele unui schizofrenic vom găsi mai frecvent o mamă schizofrenică decât un tată schizofrenic. Vîrsta căsătoriei este mai mică pentru femei și aceasta permite ca boala să debuteze după căsătorie. În studiul comparativ al celor două loturi s-a constatat pentru lotul al doilea o creștere a numărului de copii (de la 47 la 89), fapt care dovedește că terapia modernă dă posibilitate schizofreniei să se înscrie în proporțiile statistice normale pentru populație în general. Această creștere a natalității, privită ca o victorie a chimioterapiei, trezește însă îngrijorarea ortopsihiatrilor, știut fiind climatul glacial care domnește în căminele cu schizofrenici (5).

În domeniul biochimiei, cercetările tind să evedențieze prezența unei serume proteine psihoactivă capabilă să explice disociația schizofreniei; astfel reapare tentația unei „somatoze în schizofrenie“.

Cu toate că deocamdată cercetările genetice din schizofrenie au spus prea puțin pentru a preciza etiopatogenia acestei afecțiuni, ele au spus suficient spre a determina căutarea unor noi date pe mai departe.

V. PSIROPATIILE

Domeniul atît de controversat al psihopatiilor a fost inclus la începutul secolului în teoria degenerescenței mintale formulată de Morel-Magnan, teorie care dezarma orice speranță terapeutică. Ulterior, corectarea opiniei generale prin admiterea factorilor social-familiali în apariția și dezvoltarea unei psihopatii permite astăzi să considerăm existența unei etiologii multidimensionale, din care face totdeauna parte un element ereditar și altul social-familial. Intricarea factorilor ereditari și de mediu este complexă și realizează o varietate infinită de modele psihopatologice. Sînt astăzi multe argumente care pledează pentru o origine psihopatică a toxicomaniilor, perversiunilor și a delicvenței. Numărul mare de psihopați din familiile de alcoolici a sugerat chiar teoria genetotrofică a lui Williams, care explică dependența de alcool prin existența unui deficit metabolic produs de factori ereditari și agravat de mediu (5, 14). Studiile pe gemeni au permis în unele cazuri de delicvență să se dea o explicație genetică (5, 11, 14). Deocamdată atît procentele menționate în literatura medicală, cît și noile rezultate din studiul cariotipului nu acoperă decît în parte problematica dificilă a acestui cadru nosografic.

Trecerea în revistă succint a cîtorva afecțiuni reprezentative cu implicații genetice demonstrează varietatea aspectelor sub care se poate manifesta ereditatea în general în psihiatrie. Este sigur că noile cuceriri vor aduce o argumentație mai bogată și mai precisă acolo unde încă sîntem obligați să apelăm la ipoteze și (o dată cu aceasta) se va desfășura în continuare munca de descifrare a necunoscutelor din tablourile psihopatologice.

BIBLIOGRAFIE

1. Allport G. — Pattern and growth in Personality New York, 1965, p. 22—57.
2. Arieti S. — American Handbook of Psychiatry, Basic Books, New York, 1961 p. 175—197 (vol. I); p. 272—290 (vol. III).
3. Davidenkova E. F. — Bolile cromozomiale ale omului, Ed. medicală, București, 1966.
4. Ey H., Bernard P., Brisset Ch. — Manuel de psychiatrie, Ed. Masson, Paris, 1967, p. 710—731.
5. Eysenck H. J. — Handbook of Abnormal Psychology, Pitman Medical, Londra, 1968, p. 298—344.
6. Ionășescu V. — Tulburările metabolice în bolile neuropsihice, Ed. medicală, București, 1966.
7. Hoch P., Zubin J. — Psychopathology of schizophrenia, Ed. Grunae și Straton, New York, 1966, p. 252—277.
8. Lamy P. — Médecin de France, 1968, 193.
9. Murphy G. — Personality, New York, 1967.
10. O. M. S. — Recherches génétiques en psychiatrie, *Rapp. technique*, 1966, 346.
11. Petrilowitsch N., Baer R. — *Fortschr. Neurol. Psychiat.*, 1967, 11, 606—611.
12. Porot E. A. — *Manuel alphabétique de psychiatrie*, Presse Univ., Paris, 1965.
13. * * — *Psychiat. Gegenwart*, 1967, I, p. 1—67.
14. Roșu S., Sirbu A., Simulescu E., Crăciun O. — Date recente asupra eredității în psihiatrie, Comunicare U.S.S.M., Cluj, Secția de neuropsihiatrie, 1962.
15. Sternberg E. I. — *J. Neuropat. psihit. Korsakov*, 1962, 4, 606—624.

GENETICA ÎN PATOLOGIA CARDIOVASCULARĂ

Roman Vlaicu

Încă de multă vreme, frecvența cardiopatiilor congenitale în anumite familii a atras atenția asupra rolului posibil al eredității în determinarea acestor îmbolnăviri. În zilele noastre, frecvența mai mare a unor boli cardiovasculare cronice (hipertensiunea arterială, ateroscleroza) în anumite familii, la anumite grupuri de populație, a avertizat asupra rolului posibil al eredității și în producerea acestor boli. Interesul pentru studiul factorului genetic în patologia cardiovasculară este deci nu numai justificat, dar și absolut necesar.

Fenomenul genetic în patologia cardiovasculară este asemănător cu cel întâlnit în alte domenii ale patologiei umane. Factorii genetici pot interveni în determinismul unei cardiopatii moștenite sau al unei cardiopatii cîștigate. Gradul lor de implicare etiologică variază foarte mult; pot constitui unicul factor responsabil de geneza unei anomalii morfofuncționale, mai deseori în bolile familiale, sau pot avea rolul de factori potențiali într-un complex multifactorial cum este în cazul unor cardiopatii cîștigate. Devine deci necesară aprecierea ponderei, în fiecare caz în parte, a factorului genetic și a factorilor din mediul înconjurător. Această descifrare este, adeseori, deosebit de dificilă.

Sub raportul gradului de implicare etiologică a factorilor genetici în patologia cardiovasculară se poate deosebi un grup al cardiopatiilor cîștigate, în etiologia cărora pe prim plan stau factorii din mediul extern — factorii genetici constituind deseori predispoziția la boală — un grup al cardiopatiilor congenitale, la care ponderea factorilor genetici se întâlnește în proporție aproximativ egală cu cea a factorilor ecologici și, în sfîrșit, un grup al cardiopatiilor moștenite în etiologia cărora rolul preponderent revine factorilor genetici.

În cele ce urmează se va analiza rolul factorilor genetici în patologia cardiovascularopatiilor congenitale și a celor moștenite, familiale. Analiza va fi făcută în lumina datelor generale deja cunoscute, de pe poziția clinicianului, care încearcă să profite de pe urma progresului realizat, mai ales în ultimii ani, în domeniul geneticii.

CARDIOPATIILE CONGENITALE

Termenul de „cardiopatie congenitală” indică de fapt „o anomalie cardiovasculară” prezentă la naștere. Acest termen nu are implicații de sens etiologic și deci nu include noțiunea de ereditate. Multe dintre tulburările ereditare nu sînt congenitale (adică nu sînt prezente la naștere) și, invers, multe dintre afecțiunile congenitale nu sînt ereditare, ci se datoresc intervenției unor factori din mediul extern, cum ar fi rubeola, talidomida sau tulburările în dezvoltarea intrauterină a fătului.

Studiul bazelor genetice ale anomaliilor cardiovasculare congenitale se adresează pe de o parte frecvenței acestora, agregării lor familiale, rasiale, de grup sanguin etc. și pe de altă parte, decelării procesului intim, la nivel biomolecular al substratului genetic al bolii (mutații genetice, aberații cromozomiale numerice sau structurale).

Studiul frecvenței anomaliilor cardiovasculare congenitale se face prin metoda devenită astăzi clasică pentru astfel de studii, metoda epidemiologică. Datele cele mai reale sînt cele obținute prin depistări active, mai ales în rîndul copiilor de școală. În general, frecvența anomaliilor cardiovasculare congenitale majore variază între 0,46 și 0,6‰ (1,2). M. Campbell (3), sintetizînd datele din literatură în acest domeniu, ajunge la concluzia că frecvența anomaliilor cardiovasculare congenitale este de 0,6‰ din totalul nașterilor. După cercetările făcute de colectivul nostru, în orașul și regiunea Cluj, frecvența anomaliilor cardiace congenitale majore în rîndul copiilor de școală este de 0,6‰ (4).

Studiul propriu-zis al factorilor genetici se face cercetînd frecvența anomaliilor cardiovasculare congenitale la descendenții purtătorilor de anomalii cardiovasculare congenitale, la rudele acestora, frecvența anomaliilor în cazuri de consanguinitate, în legătură cu vîrsta părinților, la gemeni, analize genealogice etc.

Frecvența la descendenți. Un argument pentru posibila moștenire specifică a anomaliilor cardiovasculare congenitale este frecvența semnificativ mai mare a acestora la descendenții bolnavilor identificați ca avînd astfel de leziuni față de frecvența întîlnită în rîndul populației generale. Printre descendenții a 1 227 de bolnavi cu anomalii cardiace congenitale, Campbell găsește o frecvență de 1,7‰ anomalii cardiace congenitale față de 0,6‰ în rîndul populației generale. Frecvențe asemănătoare au găsit și alți autori (5, 6, 7). Aceleași studii au arătat și o mare tendință a leziunilor de a fi concordante, adică prezența aceluiași tip de leziune la părinți și la descendenți. Șansa de apariție a concordanței leziunilor este de 15—20 de ori mai mare la descendenții celor cu anomalii cardiace congenitale decît șansa apariției concordanței în rîndul populației în general.

Studiul descendenților a arătat o frecvență diferită și în legătură cu tipul leziunilor de la părinți. Iată două statistici:

	Campbell (3)	Lamy (cit. 7)
	%	%
Coarctația aortei	0,4	2,56
Defect de sept atrial	1,1	1,24
Defect de sept ventricular	1,7	0,47
Tetralogie Fallot	2,7	1,0
Persistența ductului arterial	2,1	1,2
Stenoza pulmonară	2,1	3,74

Se poate spune deci că există o agregare familială crescută a anomaliilor cardiace congenitale. Această constatare nu implică însă neapărat o explicație genetică simplă. Agregarea familială poate indica și validarea unor tendințe genetice prin factorii unui mediu înconjurător identic.

Frecvența la alte rude. În general, nu se observă a frecvență mai mare a anomaliilor cardiace congenitale la rudele bolnavilor cu anomalie cardiacă congenitală, altele decât descendenții, decât în rîndul populației în general. O frecvență de 1,30% a fost găsită la ascendenții bolnavi, cu defect de sept atrial (3).

Consanguinitatea părinților. Cardiopatiile congenitale survin mai frecvent în cazuri de consanguinitate decât la restul populației. Aceasta se explică prin faptul că în consanguinitate, datorită modului recesiv de transmitere a unor anomalii cardiace congenitale, șansele de împerechere a două gene recesive sînt sporite. O legătură strînsă a fost găsită între consanguinitate și dextrocardie, fapt explicat încă din 1938 de către Cockayne (cit. 7), ca fiind datorit transmiterii unei simple gene autozome recesive. Astăzi, se consideră ca posibil și sistemul genetic multifactorial (8).

Vîrsta părinților. Studiile făcute arată că există o strînsă corelație între vîrsta avansată a mamei și mongolism, defect de sept ventricular și tetralogie Fallot (3). L. S. Penrose (9) găsește o corelație mai strînsă între apariția anomaliilor cardiace congenitale și vîrsta paternală avansată, indicată de diferența de vîrstă paternă-maternă.

Studiul gemenilor. Teoretic, dacă factorul ereditar ar fi factor major în determinarea anomaliei cardiace congenitale, ar fi de așteptat ca la monoziгоți să găsim leziuni concordante, adică aceeași leziune la ambii gemeni, mult mai frecvent decât la dizigoți. Or, datele statistice arată că nu există diferențe în ceea ce privește concordanța leziunilor la gemeni mono- sau dizigoți, ba chiar că apar mai frecvent la dizigoți (7). Această constatare subliniază posibilul rol etiologic al unor condiții de dezvoltare intrauterină a gemenilor. Datele obținute pînă în prezent privind transmiterea ereditară a anomaliilor cardiace congenitale la gemeni trebuie interpretate cu prudență și discernămint, în cadrul unei cauzalități mai degrabă multifactoriale.

Analize genealogice. Studiul genealogic al familiilor selecționate arată că în anumite familii există o netă agregare familială a anomaliilor cardiace congenitale. Mai frecvent ca leziuni specifice apar persistența canalului arterial și defectul de sept atrial. J. L. Johnson (10), studiind 200 de familii cu anomalii cardiace congenitale publicate în literatură, apreciază la 100% numărul familiilor în care există cazuri multiple de boală, sugerînd o frecvență familială. I. I. Nora și colab. (11) au studiat 100 de familii, la care unul din membri avea defect de sept atrial; în 32 de familii a mai găsit cel puțin încă un membru cu defect de sept atrial. Studiile familiale sugerează transmiterea uneori simplă, recesivă, alteori simplă, dominantă, dar majoritatea autorilor înclină spre un sistem poligenic de manifestare a predispoziției genetice. Aceste ultime date statistice fac să se creadă că, în anumite cazuri, mai ales la feții morți și la decedații imediat după naștere, anomaliile cardiace congenitale au o implicație etiologică genetică deosebit de importantă (7).

De la descoperirea rolului specific al aberațiilor cromozomiale în cauzarea anomaliilor cardiace congenitale s-au făcut eforturi deosebite pentru depistarea acestor tulburări la bolnavii cu anomalii cardiace congenitale. Astăzi, studiul cariotipului a intrat în practica de laborator a descifrării factorilor genetici. Din 119 bolnavi cu cardiopatii congenitale majore, în 39 de cazuri s-au pus în evidență aberații cromozomiale de număr și în 3 cazuri variații structurale. Din 100 de bolnavi cu anomalii vasculare multiple, în 10 cazuri s-au găsit aberații cromozomiale (12). Procente mai mari de aberații cromozomiale au fost găsite la avorturi cu feți cu anomalii vasculare (13).

ANOMALII CARDIOVASCULARE MOȘTENITE

1. ABERAȚII CROMOZOMIALE

Anomaliile cardiovasculare se găsesc într-un complex de anomalii (la alte niveluri, organe și țesuturi); deseori, manifestările extracardiace sînt cele care se impun, conturează diagnosticul de anomalie genetică și în complexul fenomenelor se descoperă și anomalia cardiovasculară:

— Mongolismul, triplo 21, este cea mai cunoscută din acest grup. O proporție de 35% dintre cei cu triplo 21 au anomalie cardiacă congenitală. În 60% din cazuri, aceste anomalii duc la moartea înainte de vîrsta de 10 ani (7, 14). Anomaliile mai frecvent întîlnite sînt: absența completă a septului interatrial, persistența canalului atrioventricular comun, persistența *ostium primum* și defecte ale *ostium secundum*.

— Sindromul Turner, sindrom XO (un cromozom X mai puțin) se însoțește frecvent de coarctarea aortei sau stenoza pulmonară și mai rar de defect de sept atrial, de hipertensiune arterială, angiomatoză intestinală (hemoragii) și de limfedem. Anomaliile cardiovasculare se întîlnesc în aproximativ 44% din cazuri (3).

— Trisomia grupului D₁ (triplo 13—15) se acompaniază de tulburări severe la ochi, creier, mînă, defect de sept ventricular și dextropoziția inimii.

— Trisomia grupului E (triplo 17 sau 18) se însoțește de defect de sept ventricular, defecte valvulare și/sau persistența ductului arterial.

Este de remarcat faptul că în cazul aberațiilor cromozomiale, anomaliile cardiovasculare se însoțesc de numeroase alte anomalii, extracardiace, care, de cele mai multe ori, impun considerarea diagnosticului în cadrul unui sindrom dat.

2. TULBURĂRI MONOGENICE

Acest grup de tulburări genetice cuprinde un mare număr de afecțiuni:

a) TULBURĂRI EREDITARE ALE ȚESUTULUI CONJUNCTIV

— Sindromul Marfan este datorit unei tulburări autozomale dominante cu manifestări multiple: *ectopia lentis*, tulburări osoase (dolicoostenomelie, aracnodactilie, *pectus excavatum* sau *carinatum*, cifoscolioză), anevrism disecant

al sinusului Valsalva, al aortei ascendente și insuficiență aortică datorită disecării sau dilatării aortei. Se mai pot întâlni și alte leziuni valvulare, aortice, ale arterei pulmonare, defect de sept atrial sau ventricular etc. Sindromul Marfan poate fi încadrat în grupul mucopolizaharidozelor. În urina acestor bolnavi se pune în evidență o cantitate crescută de mucopolizaharide, în special condroitinsulfat A sau C.

— **Pseudoxanthoma elasticum** este o tulburare autozomală recesivă, în care se întâlnesc tulburări ale pielii și anomalii vasculare (digestive, oculare, periferice).

— **Sindromul Ehlers-Danlos** se caracterizează printr-un defect în organizarea normală a fibrilelor de collagen. Se manifestă prin modificări la nivelul articulațiilor (hiperextensibilitate), ale pielii, rupturi ale marilor vase, cu hemoragii, rupturi la nivelul intestinului; pot apărea cardiomegalie, sufluri la nivelul inimii, disecția aortei etc. Există cazuri în care sindromul Ehlers-Danlos se asociază cu sindrom Marfan dând un tablou clinic foarte complex.

— **Sindromul Hurler** face parte din grupul bolilor datorite unei tulburări înăscute în metabolismul mucopolizaharidelor. În sindromul Hurler se întâlnește o tulburare genetică în metabolismul condroitinsulfatului B și a heparitinsulfatului, cu depozitari excesive de material în diverse părți ale organismului, inclusiv în intima vaselor (pseudoateroscleroză). Se pot întâlni dilatații ale inimii, deformări valvulare (mai ales ale valvei mitrale), fibroză subintimală și îngustarea arterelor coronare, miocardofibroză și insuficiență cardiacă.

— **Sindromul Morquio-Ullrich și sindromul Scheie**, alte două sindroame din grupul mucopolizaharidozelor, se însoțesc de anomalii cardiace congenitale. Sindromul Morquio-Ullrich se transmite autozomal recesiv; se caracterizează printr-o excreție mărită de keratosulfati și prezintă anomalii osoase (vertebre turte), cornee încețoșată și insuficiență aortică. *Scheie's sindrom* se transmite autozomal-recesiv; se caracterizează prin eliminare sporită de condroitinsulfat B și se manifestă prin articulații rigide, modificări caracteristice ale feței, cornee încețoșată, tulburări ale intelectului și insuficiență aortică.

b) GRUPUL TULBURĂRILOR NEUROLOGICE ȘI MUSCULARE

Mutațiile monogenice din acest grup nu se repercutează numai asupra țesutului nervos și/sau muscular ci și asupra aparatului cardiovascular, în următoarele forme de îmbolnăvire:

- ataxia Friedreich;
- disautonomia familială Riley-Day;
- distrofia miotonă;
- distrofia musculară Duchenne.

c) FACOMATOZE

— Neurofibromatoza și sindromul von Hippel-Lindau se asociază frecvent cu un feocromocitom.

— Scleroza tuberosis este frecvent asociată cu un rabdomiom miocardic.

d) ERORI ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM

— Boli de depozitare ale glicogenului care interesează și miocardul (forma cardiacă a bolii von Gierke, cunoscută și sub denumirea de boala Pompe; datorită unei deficiențe enzimatice, a α -amilazei, se transmite autozomal-recesiv și se manifestă la nivelul aparatului cardiovascular, prin cardiomegalie fără cianoză și fără sufluri);

— Hiperplazia suprarenalei cu hipertensiune arterială.

e) MALFORMAȚII VASCULARE

— Teleangiectazia hemoragică ereditară Rendu-Osler-Weber, manifestată prin hemoragii deseori pe aceleași teritorii vasculare, însoțită adesea de fistule arteriovenoase pulmonare, este o tulburare care se moștenește ca o trăsătură dominantă.

— Limfedemul ereditar (tipurile Milroy și Meige) este o tulburare autozomală cu transmitere dominantă.

f) SINDROAME COMPLEXE CU MALFORMAȚII ALE INIMII

— Sindromul Kartagener evoluează cu dextrocardie.

— Sindromul Holt-Oram evoluează cu defect de sept atrial.

— Sindromul Ellis-van Creveld, cu mutație monogenică, se asociază cu *atrium unicum*.

g) DIVERSE

— Sindromul Werner, cu transmitere autozomal-recesivă, se caracterizează prin îmbătrânire precoce, diabet zaharat, cataractă, stenoză calcificată a aortei și arteriopatii periferice care duc frecvent la amputații.

— Hipertensiunea pulmonară.

— Amiloidoza familială.

— Hipertrofia ventriculară (stenoză musculară subaortică și stenoză aortică supralvulară).

— Fibroelastoza endocardică.

— Miocardiopatia familială idiopatică.

În acest grup, gena mutantă este o genă care determină o substanță sau un proces cu semnificație largă și nu s-a putut încă evidenția, pentru fiecare tulburare ivită, o modificare specifică în genă sau cromozomi. În unele cazuri (hipertrofie ventriculară, fibroelastoza etc.) de fapt, acțiunea genei mutante se limitează numai la nivelul inimii, neinteresând alte țesuturi sau organe. S-a observat că în anumite familii, aceste anomalii survin cu o frecvență mai mare decât în mod obișnuit (14). În cazuri sporadice, deseori datorită condițiilor din viața intrauterină, aceste anomalii pot apărea în asociere cu alte modificări, cu alte anomalii congenitale.

Pe lângă problemele de diagnostic în care, după cum am văzut, se face apel la variate metode de investigație, originea genetică a unei boli cardiovasculare ridică și probleme de tratament și prognostic. Dacă pentru unele dintre aceste afecțiuni există posibilități terapeutice chiar în etapa actuală (tratamentul chirurgical al defectelor existente), pentru altele însă există doar încercări de tratament și mai ales speranța că într-un viitor nu prea îndepărtat se va reuși o intervenție activă și în reglementarea informației genetice și a transmiterii ei.

O mare problemă o constituie, în etapa actuală, sfatul genetic. „Am o cardiopatie congenitală. Am fost operat și mă simt bine. Doresc să am copii. Pot avea copii?” Iată numai un aspect din multiplele întrebări ridicate de bolnavi cu anomalii cardiovasculare moștenite sau congenitale, și care așteaptă un răspuns din partea medicului, din partea specialistului. Răspunsul variază de la caz la caz și este în funcție, în primul rând, de felul anomaliei genetice și de caracterul ei de transmitere. Dar, desigur că mai intervin și alți factori în fiecare caz în parte și de aceea răspunsul necesită bune cunoștințe și în acest domeniu al medicinei.

BIBLIOGRAFIE

1. Morton W. F., Huhn L. A. — *J. Amer. med. Ass.*, 1966, 195, 1 107—1 110.
2. Higgins I. T. T. — *J. Chron. Dis.*, 1965, 18, 699—721.
3. Campbell M. — *Brit. med. J.*, 1965, 2, 895—904.
4. Zăgreanu I., Rădulescu D. — Răspîndirea cardiopatiilor congenitale în funcție de factorii din mediul extern, Comunicare la Conferința interregională de cardiologie, Cluj, 1961.
5. Shaws R. F. — *Lancet*, 1965, 2, 519—524.
6. Record R. G., McKeown T. — *Brit. Heart J.*, 1953, 15, 376—386.
7. Jackson B. T. — *New Engl. J. Med.*, 1968, 279, 1, 25—29.
8. Campbell M. — *Brit. Heart J.*, 1963, 25, 803—813.
9. Penrose L. S. — *Lancet*, 1955, 2, 312—314.
10. Johnson J. L. — *Arch. Pediat.*, 1961, 78, 253—268.
11. Nora J. J., McNamara D. G., Frazer F. C. — *Circulation*, 1967, 35, 448—456.
12. Emerit I., de Grachy J., Vernont P., Corone P. — *Circulation*, 1967, 36, 886—905.
13. Thompson H. — *Amer. J. Med. Sci.*, 1965, 250, 718—734.
14. McKusik V. A. — *Circulation*, 1964, 30, 326—340.

ASPECTE EREDITARE ALE BOLILOR CARDIO- VASCULARE COMUNE

I. N. Boeriu

Problema definirii bazei genetice a bolilor cardiovasculare comune — adică a precizării măsurii în care variația riscului individual de a dobîndi o asemenea boală este condiționată de materialul ereditar dobîndit la concepție — este mult mai dificilă și mai complexă decît în cazul bolilor rare. Nu trebuie să ne așteptăm să descoperim baza ereditară a bolilor comune (adică a celor care survin cu o probabilitate de cel puțin 10% într-un mediu dat) în vreo anomalie specifică a unor gene izolate. Diferențele individuale în susceptibilitatea de a dobîndi o asemenea boală — în măsura în care sînt moștenite — sînt datorite unui mare număr de gene. Datorită complexității organismului și ținînd seama de faptul că activitățile metabolice se înlănțuie și se intrică între ele, ne putem aștepta ca aproape fiecare genă să aibă oarecare influență aproape asupra fiecărei activități. De aceea, metodele de analiză genetică utilizate cu eficiență așa de mare în studiul bolilor rare nu dau în mod necesar rezultate semnificative în cercetarea bolilor comune.

Pentru o privire de ansamblu asupra importanței relative în patogeneza a factorilor genetici și de mediu este utilă schema cunoscută care cuprinde toate bolile într-un spectru continuu, la un capăt al căruia (G) domină factorii genetici, iar la celălalt (M), cei de mediu (22, 29) (fig. XII, 1). Spre capătul G se situează bolile rare, de regulă monogenice; în zona de mijloc și spre extremitatea M trebuie să plasăm bolile complexe și aproape sigur poligenice, adică în care operează factori genetici multipli. Utilizarea cu un înțeles apropiat a termenului multifactorial are două îndreptățiri: factorii ereditari nu trebuie să fie numai gene izolate, pot fi și grupe de gene sau, din contra, subdiviziuni ale genelor, dacă nu chiar factori citoplasmatici sau alții încă necunoscuți; pe de altă parte, analiza aplicată acestor boli trebuie să lase totdeauna loc și factorilor negenetici, de mediu.

În studiul tulburărilor genetice de la un capăt sau de la celălalt al spectrului, problemele care se pun sînt diferite. Spre extremitatea G se discută amănunte de genetică formală, natura precisă a defectului de bază etc. Spre capătul M, prima întrebare trebuie să fie: există o contribuție genetică semni-

ficativă în patogeneză? Iar a doua întrebare, decurgînd din prima: prin ce mecanisme contribuie factorii genetici la patogeneză?

Noțiunea determinării genetice parțiale are semnificație numai dacă este definită în mod adecvat și chiar și atunci este relevantă numai pentru mediul în care s-au făcut observațiile.

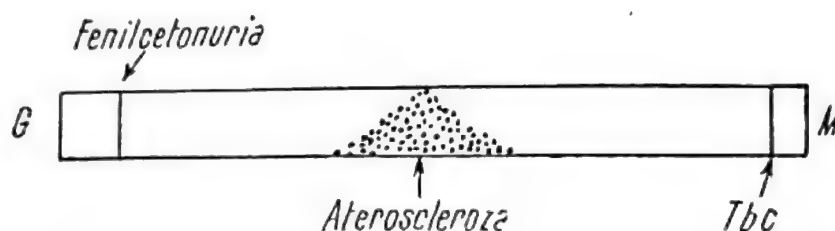


Fig. XII, 1. — Reprezentarea schematică a locului pe care îl ocupă bolile în raport cu importanța relativă a factorilor genetici (G) și de mediu (M) în patogeneză (după 22, 20).

Cunoștințele noastre asupra aspectelor patologice ale geneticii umane sînt foarte limitate atît prin sărăcia datelor privitoare la structura genetică a populației umane, cît și din cauza dificultăților teoretice pe care le implică asemenea studii. Totuși, nu este lipsită de interes o scurtă trecere în revistă a celor mai frecvente boli cardiovasculare, îndeosebi pentru a le situa într-o perspectivă corectă din acest punct de vedere.

REUMATISMUL ACUT ȘI CARDIOPATIILE REUMATISMALE

Încă nu se poate explica în mod satisfăcător de ce numai un număr relativ mic de persoane se îmbolnăvesc de reumatism acut după infecții streptococice din grupul A, în timp ce majoritatea rămîn indemne. Nu există nici o dovadă că acest fapt ar fi în legătură cu proprietăți „reumatogene” diferite ale vreunui din cele 50 de tipuri serologice ale streptococilor din grupa A sau cu particularități ale enzimelor și toxinelor extracelulare. Anumiți factori ai gazdei trebuie să joace un rol principal.

Incidența familială crescută a reumatismului acut este binecunoscută. Un studiu recent al familiilor cu mai mult de un copil cu reumatism acut (43), care a arătat că frații tind să aibă aceleași manifestări clinice și sechele cardiace, aduce noi argumente în sprijinul rolului factorilor genetici. Totuși, eforturile făcute spre a găsi o marcă genetică comună au dus la constatări contradictorii. Rezultatele unor cercetări recente (13) nu confirmă — cum s-a pretins — că există o asociere între grupa sanguină O și predispoziția la cardiopatii reumatismale, dar au dovedit asocierea între caracterul nonsecretor și reumatismul acut, în sensul unui exces semnificativ cînd numărul scontat este bazat pe frecvența parentală a genelor.

Ipoteza potrivit căreia copiii din familiile reumatice ar avea o susceptibilitate crescută la infecții streptococice a fost infirmată de cercetări (38) care au arătat că nu există nici o diferență în incidența infecțiilor streptococice și procentul de purtători printre frații copiilor reumatice și populația de control. Este în schimb dovedit că persoanele care fac reumatism acut după

infecții streptococice netratate sînt de obicei cele care prezintă o creștere marcată a anticorpilor antistreptococici (streptocociile cutanate, care provoacă doar un răspuns imun ușor, foarte frecvente la copii, declanșează rar sau nici-odată reumatismul acut). Ceea ce rămîne însă de explicat este mecanismul hiperreactivității imunologice față de antigenele streptococice. Titrurile ridicate de anticorpi antistreptococici, nivelurile crescute ale imunoglobulinelor (γ -1 A, γ 2-globuline, rareori γ -1 M), lipsa bolii la agammaglobulinemia ereditară etc. sînt dovezi tot mai numeroase care pledează pentru faptul că boala poate fi rezultatul unui proces imunopatologic.

Totuși, cu toată acumularea de cunoștințe asupra biologiei streptococului și asupra răspunsurilor imune ale gazdei, precum și descoperirea antigenelor pe care le au în comun (de exemplu, reacții încrucișate cu miocardul uman și cu glicoproteine ale valvulelor cardiace), nu ne putem încă explica în mod satisfăcător de ce streptococul ubicvitar inițiază procesul patologic numai la unele persoane.

HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ

Nici clinicienii și nici epidemiologii și geneticienii nu par să pună la îndoială faptul că hipertensiunea arterială esențială are o incidență familială crescută și că aceasta este în mare parte determinată genetic. Cercetări familiale (părinții, copiii și frații hipertensivilor au valori tensionale în medie mai ridicate decît rudele normotensivilor și mor mai des de complicațiile tipice ale bolii hipertensive), compararea gemenilor mono- și dizigoți, ca și a diferitelor grupe rasiale și chiar unele cercetări experimentale au adus numeroase dovezi pentru caracterul ereditar al hipertensiunii arteriale. În consecință, considerarea hipertensiunii esențiale ca o boală cu o componentă ereditară importantă a cîștigat și o valoare de diagnostic, contribuind la diferențierea ei de alte forme de hipertensiune.

Prelucrarea statistică a unui material foarte bogat pare să arate însă că factorul ereditar este prezent și la unele forme ale hipertensiunii renale (de exemplu, în 40% din cazurile de stenoză a arterei renale s-a constatat o anamneză familială pozitivă) (5).

Dacă datele de acest fel sînt neîndoielnice și concordante, numeroase întrebări privind contribuția relativă a eredității și a mediului în determinarea hipertensiunii, precum și natura mecanismului ereditar își așteaptă încă răspunsul. Aceste probleme sînt departe de a fi numai de un interes pur academic. De elucidarea lor va depinde fără îndoială și răspunsul la întrebările care își păstrează și astăzi actualitatea: ce este hipertensiunea esențială și dacă este ea o unitate etiologică și patogenetică? Răspunsul la aceste întrebări are nu numai o valoare principală, ci el va influența și metodologia de cercetare a mecanismelor de bază ale acestei boli.

Înainte lucrărilor lui G. W. Pickering, hipertensiunea esențială era considerată ca o entitate distinctă, o caracteristică patologică în raport cu care persoanele puteau fi clasate „plus sau minus“, afectate sau neafectate. G. W. Pickering și colab. (32, 33) — și ulterior alți autori (6, 30) — au demonstrat că tensiunea arterială descrie o distribuție de frecvență continuă care este uni-

modală și că nu este evidentă nici o separare într-o clasă hipertensivă și una normotensivă. Din aspectul gaussian, de variabilă distribuită „normal”, G. W. Pickering deduce că nivelul tensiunii arteriale al unei persoane este o caracteristică cantitativă, determinată de o varietate de factori dintre care nici unul nu este dominant, este deci o trăsătură multifactorială, comparabilă cu statura, inteligența, refracția oculară etc. Această ipoteză are o semnificație biologică profundă: ea implică faptul că nu există o distincție netă între normal și anormal, ci o gradație continuă, de la bine adaptat la rău adaptat. Nu se moștenește deci hipertensiunea arterială, ci tindem să moștenim un anumit nivel al tensiunii arteriale. Persoanele considerate ca suferind de hipertensiune esențială sînt cele a căror tensiune arterială se situează la capătul superior al distribuției continue în formă de clopot. De aici pînă la a spune „hipertensiunea esențială nu este o boală” desigur că nu a fost decît un pas (în realitate, G. W. Pickering admite că este o boală, prin consecințele pe care le antrenează; el contestă doar că este o unitate morbidă, cu o singură cauză).

În ceea ce privește determinarea genetică, ea este de natură poligenică și nu este deci susceptibilă de interpretare în termenii simplei dominante sau recesivității mendeliene. Unii urmași primesc o parte mai mare din genele care favorizează tensiunea arterială înaltă, avînd astfel tendința la valori crescute la toate vîrstele. În cazul tensiunii arteriale foarte înalte (ca în hipertensiunea malignă sau cea benignă severă), este probabil că atît componentele moștenite, cît și cele de mediu sînt neobișnuit de mari.

Este de presupus că factorii genetici multipli operează fiecare printr-un mecanism diferit pentru a influența tensiunea arterială. Cu toate speranțele că se vor putea defini multe sau chiar toate mecanismele, perspectivele sînt, evident, mai puțin încurajatoare decît dacă analiza genetică ar sugera moștenirea unifactorială și deci un defect biochimic unitar.

Spre deosebire de această concepție, R. Platt (34, 35, 36) și alți autori (29) ajung la concluzia că de fapt se pot demonstra două populații distincte în privința tensiunii arteriale și că există o bimodalitate a curbilor de distribuție, compatibilă cu existența unui singur factor genetic major în etiologia hipertensiunii esențiale. Problema nivelului-limită care ar permite distincția între hiper- și normotensiune R. Platt a rezolvat-o tot prin bimodalitatea curbilor: dacă se consideră antimodul drept prag pentru hipertensiune în grupul 45—60 de ani, atunci valoarea 160—95 mm Hg devine limita de la care începe hipertensiunea la această vîrstă. R. Platt deduce că la persoanele hipertensive creșterea tensiunii arteriale cu vîrsta nu este liniară. Studiarea rudelor trebuie deci făcută la frați și surori și nu la părinți și copii, deoarece copiii pot fi prea tineri, iar părinții afectați pot fi probabil decedați.

Un asemenea studiu al distribuției de frecvență a tensiunii arteriale sistolice la frații și surorile unor bolnavi cu hipertensiune esențială arată că pe măsură ce urmărim grupele de vîrstă succesive, graficele prezintă două trăsături importante: apariția unei proeminențe care spre 40 de ani este mai evidentă la tensiunea arterială cu valori de 160 mm Hg și dezvoltarea unei proeminențe la capătul înalt al curbei, în afara oricărei distribuții normale, gaussiene. Efectul acestor două particularități este un fel de distribuție neregulată, trimodală, care se observă mai bine pe graficele separate pentru bărbați și femei la vîrstele de 45—59 de ani (fig. XII, 2).

Mecanismul genetic pe care îl propune R. Platt mai recent (36) este acela al acțiunii unei singure gene, cu dominanță incompletă și o frecvență de aproximativ 0,24, care, în forma homozigotă, dă naștere la hipertensiune severă și în forma heterozigotă la o creștere moderată a tensiunii arteriale. Presupunând că frecvența hipertensiunii severe la femei între 45 și 60 de ani este de 6% și dacă admitem că ea se datorește unei gene incomplet dominante de acest tip, ne putem aștepta

ca cele trei fenotipuri (tensiunea arterială normală, hipertensiune moderată și hipertensiune severă) să survină la frați în proporțiile respective de 14, 47 și 38%. Utilizând aceste proporții se pot face curbe ipotetice care reprezintă distribuții foarte apropiate de cele din figura XII, 2 cu deosebirea că numărul cazurilor la valorile înalte este mai mic decât cel calculat. Această diferență o pot explica decesele prin boală hipertensivă la această vârstă.

În populația generală, proporțiile ar fi 0,58; 0,36, 0,06 (admițând distribuția normală p^2 ; $2pq$; q^2). Astfel, hipertensiunea severă ar fi de 6 ori mai frecventă la frații hipertensivilor severi. Este de remarcă că o asemenea curbă nu se poate construi nici pe baza unei gene pur dominante, nici a moștenirii multifactoriale. Această teorie ar putea explica faptul că deși unii frați moștenesc o tensiune arterială înaltă, similară cu a bolnavului, majoritatea moștenesc numai o creștere moderată a tensiunii arteriale. În ceea ce privește efectul selecției naturale, aceasta tinde să elimine o asemenea genă la persoanele mai tinere, dar o afectează mult mai lent sau chiar deloc în anii postreproductivi. Nu este exclus ca heterozigotul să aibă chiar un avantaj oarecare, încă nedeterminat.

Chiar și în această nouă formă, teoria unigenică nu poate fi decât ipotetică (fapt pe care îl recunoaște și R. Platt) (36) și probabil că va fi modificată în lumina experienței viitoare. Contribuția cea mai importantă o vor aduce studiile longitudinale, de lungă durată, pe populații cât mai omogene în privința fondului rasial și a împrejurărilor de mediu. Cercetările longitudinale la frații și copiii hipertensivilor vor avea de asemenea o mare valoare. S-au putut aduce destule obiecții ipotezei lui R. Platt, Morrison și Morris: numărul insuficient de cazuri, un factor psihologic în măsurarea tensiunii arteriale, tendința de a evita valorile incerte și chiar că bimodalitatea descendenților nu ar fi incompatibilă cu ipoteza poligenică (17).

Greutatea argumentelor pare să încline balanța mai mult în favoarea ipotezei poligenice. Această controversă rămâne însă una dintre cele mai exemplare (expunerea exactă a datelor, dând posibilitatea de a fi preluate și de alții, eventual de a fi incluse în altă ipoteză etc.) și mai stimulatoare din

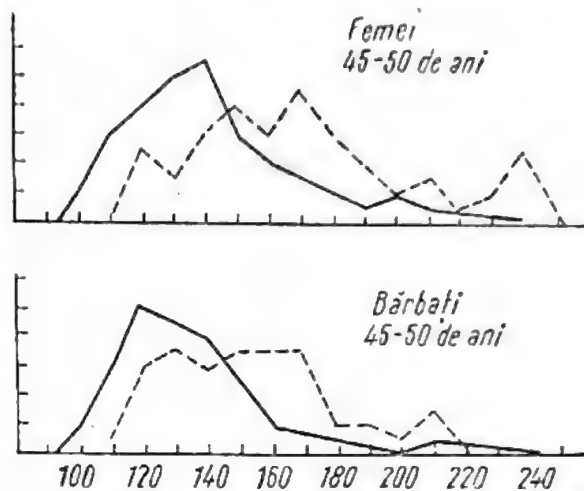


Fig. XII, 2. — Distribuția de frecvență a tensiunii arteriale sistolice la frații și surorile hipertensivilor (-----), comparativ cu populația generală (—) (După 36).

istoricul problemei. În orice caz rămâne de elucidat natura factorilor genetici implicați. Chiar admitând baza poligenică a tensiunii arteriale, merită să se facă eforturi în continuare spre căutarea diferențelor individuale determinate genetic și care au însemnătate pentru nivelul tensiunii arteriale. Ar putea fi vorba de anomalii biochimice, dar și de anumite devieri morfologice sau funcționale de la normal în teritoriul arteriolar sau la nivelul nervilor vasomotori, care să aibă drept rezultat o funcție vasculară modificată. Creșterea tensiunii arteriale este de fapt un răspuns fiziologic la constricția arteriolelor sistemice. S-a putut arăta că hipertensiunea esențială este caracterizată prin creșterea capacității de răspuns a vaselor sanguine sistemice la stimularea prin noradrenalină (și alte substanțe vasoactive); această hiperreactivitate este de fapt cea mai timpurie manifestare a hipertensiunii esențiale și poate fi demonstrată chiar la copiii nehipertensivi ai părinților hipertensivi (9, 14). Una dintre cauzele ei ar putea fi excesul de noradrenalină liberă, datorită unui defect în mecanismul de înmagazinare a noradrenalinei (24). Vasoconstricția crescută duce la creșterea concentrației sodiului în musculatura netedă a pereților vasculari și astfel la edemul acestora, la readaptarea baroreceptorilor, la creșterea reactivității față de substanțele vasoactive etc.

ATEROSCLEROZA ȘI CARDIOPATIA CORONARIANĂ

Faptul că bolnavii aterosclerotici și îndeosebi coronarieni au deseori rude apropiate cu îmbolnăvire similară este o observație curentă, făcută demult, nu numai de clinicieni, dar și de publicul laic. O serie de cercetări (45, 11, 40) au și căutat să documenteze acest lucru. Dar față de o boală așa de comună — care chiar și numai datorită întâmplării poate coexista la mai mulți membri ai unei familii — este surprinzător că aceste cercetări sugerează o agregare familială destul de modestă. De fapt, incidența familială ar fi probabil mai ridicată dacă informațiile asupra bolii ar fi mai exacte și mai complete. Există însă câteva obstacole majore, între care:

- insuficiența criteriilor clinice pentru a permite clasificarea fără echivoc a persoanelor cercetate;
- incertitudinea asupra diagnosticului celor decedați;
- caracteristicile de vîrstă ale bolii coronariene: o persoană de 40 de ani, considerată sănătoasă, poate fi bolnavă peste cîțiva ani, deci cel considerat astăzi control mîine poate fi caz;
- nu se poate atribui aceeași greutate deceselor, indiferent de vîrstă: de pildă nu se poate spune că un bărbat al cărui tată sau frate a decedat de infarct la 80 de ani are antecedente familiale mai încărcate decît altul al cărui tată sau frate trăiesc la aceeași vîrstă;
- decesele rudelor survenite înaintea cercetării;
- decesele prin boli intercurrente etc.

Desigur că relevarea acestor dificultăți sugerează și posibilitățile metodice de învingere a unora dintre ele. Există o serie de cercetări în curs de executare, care abordează problema pe căi adecvate și care probabil că vor aduce date mai certe. Dintre datele mai valoroase comunicate în ultimii ani, merită

să fie menționată o analiză mai elaborată a riscului de deces prin cardiopatie ischemică a rudelor de gradul I (41): sub 55 de ani la bărbați și 65 de ani la femei, pentru rudele bolnavilor la care boala a apărut sub aceste vârste, riscul este crescut de 2,5 ori pentru femeile și de 5 ori pentru bărbații rude ale bolnavilor bărbați; de 6,5 ori pentru bărbații și de 7 ori pentru femeile rude ale bolnavilor femei (la bolnavii mai tineri riscul crește până la de 10 ori).

Deși agregarea familială este considerată o condiție *sine qua non*, prealabilă pentru orice ipoteză genetică, în sens strict chiar datele indiscutabile nu dovedesc baza genetică a unui caracter sau boli, pentru că factorii de mediu și sociali — ca și genele — variază de la o familie la alta. Cercetările pe gemeni diferențiază în mod mai exact influența factorilor genetici față de cei negenetici și — deși comportă mai multe dificultăți decît s-ar părea — reprezintă poate cea mai bună metodă pentru aprecierea cantitativă a rolului factorilor genetici în bolile comune. Dar multe din cercetările comunicate pînă nu demult au fost neconcludente și criticabile; unele argumentează totuși în mod convingător pentru existența unei predispoziții genetice (cum este un studiu recent privitor la angina pectorală, care evidențiază concordanțe care se ridică de la 2 la 9,2‰ și de la 6,1 la 21,7‰ la gemenii di- și monoziگوٹی) (7). În schimb nu există date interetnice care să poată fi interpretate cu încredere în favoarea ipotezei genetice.

Din datele disponibile asupra bolii în ansamblu, deși incomplete, este probabil rezonabil să presupunem că atît factorii genetici, cît și cei de mediu pot juca roluri cam la fel de importante în aterogeneză. Dacă ne referim la diagrama cunoscută, utilizată pentru a ilustra interacțiunea factorilor genetici și de mediu în diferite boli (fig. XII, 1), localizarea exactă a aterosclerozei este incertă. Probabil că masa populației este aglomerată undeva pe la mijloc. În condiții de trai date, unele persoane pot fi localizate mai aproape de capătul G, altele mai aproape de M, datorită — s-ar putea spune — diferențelor de penetranță a genelor care au rol în producerea aterosclerozei.

Desigur că pentru a avea o privire de ansamblu satisfăcătoare trebuie să adoptăm concepția cuprinzătoare care subscie la ideea moștenirii poligenetice și a unui determinism multifactorial în producerea bolii. Faptul că această privire generală este ușor de acceptat și că nu riscă să fie contrazisă de fapte sau de argumente teoretice nu trebuie să descurajeze eforturile tenace de cercetare, care sînt îndreptate în două direcții: pe de o parte în sensul aprecierii în modul cel mai exact posibil al contribuției reale a predispoziției genetice și a influențelor de mediu și pe de altă parte, spre descoperirea unui defect sau, mai exact, a unor defecte metabolice de bază, răspunzătoare în esență de producerea bolii. Dintr-un punct de vedere mai practic, s-ar avansa astfel pe calea lămuririi problemei importante a cunoașterii și aprecierii frecvenței unei prezentări mai puțin floride și mai puțin dramatice a unui factor genetic, care influențează susceptibilitatea la cardiopatia coronariană.

Referitor la analiza componentelor patogenetice metabolice, majoritatea cercetărilor au fost centrate pînă acum asupra colesterolului seric și a celorlalte lipide, deși sînt tot mai multe dovezi că ateroscleroza este în legătură cu mai mult decît un singur defect metabolic. A existat chiar tendința, exage-

rată, de a echivala genetica bolii coronariene cu genetica hipercolesterolemiei. De-abia în ultimul timp, câmpul cercetărilor se lărgeste și spre alte domenii.

În ceea ce privește colesterolul, prima întrebare care se pune este: au factorii genetici semnificație în determinarea nivelului colesterolemiei? Cercetări variate, corelații intrafamiliale, studii pe gemeni etc. au dat un răspuns afirmativ. Iar forma distribuțiilor, ca și liniaritatea curbelor de regresie obținute sugerează că nivelul colesterolului seric se conformează unui mod multifactorial de determinare și că baza genetică este poligenică (facem abstracție pentru moment de unele hiperlipidemii familiale, dependente de o singură genă majoră și asupra cărora vom reveni). Cercetările care au urmărit variabilitatea aglomerărilor familiale după vîrstă au dat indicii importante asupra rolului factorilor genetici și de mediu în determinarea nivelului colesterolului seric. S-a arătat astfel (8) un grad apreciabil de asemănare între frați sub vîrsta de 16 ani, care se presupune că împărtășesc în mare măsură același mediu. Asemănarea scade între 14 și 40 de ani, cînd mediul variază mai mult și ea crește din nou după 40 de ani, sugerînd o accentuare a factorilor genetici la vîrsta medie și înaintată. Se postulează că ea s-ar datori creșterii, la vîrstele mai înaintate, a penetranței genelor implicate. Aceste constatări au putut fi explicate și în termenii unui model teoretic. Două aspecte ale acestuia merită să fie relevate, fiind semnificative pentru problema în discuție: faptul că nivelul unei variabile este determinat în mod fundamental prin factori genetici, dar poate fi modificat prin mediu și deducția că o expresivitate crescută a genelor relativ tîrziu în viață face mai dificilă modificarea prin factori de mediu.

Aceste constatări pot avea și implicații practice, privitoare la posibilitatea aprecierii riscului de a avea în viitor o valoare crescută a unei variabile care predispune la coronaroscleroză (posibilitățile de prevedere a dobîndirii cardiopatiei coronariene sînt mai mari decît la alte boli, nu numai statistic, pe grupuri, dar și în termeni de probabilități cantitative). Astfel, înainte de 40 de ani, valorile constatate par să nu constituie o bază potrivită pentru prevederea evoluției ulterioare, deoarece fiind, probabil, supuse unor influențe de mediu, ele nu sînt în mod necesar în relație cu valorile care survin la o vîrstă mai înaintată, cînd expresia genetică devine complet operativă. Deci, cunoașterea nivelului unei variabile asociate cu ateroscleroza la o persoană de vîrstă tînră nu permite totdeauna prezicerea valorilor ei la vîrsta medie și avansată. Desigur că aceste deducții sînt încă în parte ipotetice și pentru verificare sînt necesare cercetări prospective, pe termen lung, de altfel în curs de efectuare. Ele concordă însă cu presupunerea justificată de cunoștințele actuale că în ultimă analiză expresia genotipului depinde de interacțiunea lui cu factorii de mediu.

Unul dintre motivele pentru care cercetările metabolice în ateroscleroză au dus adesea la rezultate neconcludente și uneori controversate este că pînă de curînd s-au făcut relativ puține eforturi pentru a clarifica hiperlipidemiile întîlnite în clinică și a identifica tulburările metabolice asociate. S-a pus accentul mai mult pe concentrații decît pe alterațiile biochimice și pe implicațiile metabolice ale lipoproteinelor plasmatiche. Unul din rezultatele cele mai interesante și mai pline de perspectivă ale cercetărilor din ultimii ani este demonstrarea sensibilității crescute față de hidrații de carbon simpli, pe care o prezintă marea majoritate a bolnavilor aterosclerotici (18, 19).

Ea se manifestă adesea prin hiperprebetalipoproteinemie. Tot mai multe dovezi vin în sprijinul ipotezei unei tulburări în metabolismul hidraților de carbon ca un factor etiologic important în ateroscleroza umană. Spre deosebire de diabetul adevărat, această formă specială de tulburare metabolică este caracterizată inițial printr-o exagerare a activității lipogenice endogene și de obicei nu se manifestă printr-o toleranță la glucoză scăzută. Datele preliminare sugerează că această tulburare fiziopatologică este inițiată și susținută printr-un mecanism insulinar anormal, cu creșterea insulinei plasmatice și niveluri de activitate insulinsimilare anormale (19). Se conturează astfel ipoteza existenței în ateroscleroza umană a unei anomalii (determinate genetic și putând fi influențată prin factori de mediu) a producției endogene de insulină și a metabolismului ei. Este posibil ca această tulburare metabolică să lege ateroscleroza și hiperlipidemia (incluzând colesterolul, trigliceridele și alte lipide serice), obezitatea, diabetul și poate unele arteriopatii ocluzive fără o cauză evidentă într-o trăsătură genetică comună (20). Cercetările clinice și epidemiologice ale lui A. Moga și colab. (26, 27, 28), au adus încă de mulți ani argumente statistice pentru fondul ereditar comun al acestor boli.

În termeni mai generali putem admite că o capacitate limitată sau epuizarea rapidă a căilor metabolice de care dispune organismul pentru hidrații de carbon și grăsimile ingerate sînt determinate genetic. O asemenea concepție ar putea explica variația individuală mare a testelor biochimice, la niveluri comparabile de supranutriție. Acțiunea sinergică a factorilor ereditari și a unor influențe de mediu probabil că creează condiții favorabile pentru dezvoltarea mai accelerată a aterosclerozei la unele persoane.

S-au adus argumente pentru determinismul genetic și al altor factori implicați în ateroscleroză, cum este deficitul de lipoproteinlipază (42, 37): scăderea activității lipolitice ar priva peretele vascular de un mecanism de apărare. Alte cercetări caută să evidențieze diferențe familiale în variatele aspecte ale coagulării sanguine și ale economiei plachetare (index de adezivitate, durată de viață etc.). Răspunsurile de reparare a țesuturilor lezate pot fi de asemenea sub controlul eredității. În sfîrșit, constituția corpului, obezitatea etc. sînt în relație cu predispoziția la boala coronariană, ca și anumite caracteristici emoționale, care pot fi, cel puțin în oarecare măsură, înnăscute. Desigur că o asemenea înșirare se poate ușor lungi și poate fi prilej de multe ipoteze speculative. Pentru progres este necesară în primul rînd acumularea de fapte certe.

Trebuie menționat încă un factor, de alt ordin, care este posibil să se dovedească mai semnificativ decît s-a putut aprecia pînă acum: variațiile în anatomia arterelor coronare, care probabil că au o bază genetică și astfel pot fi expresia unuia din factorii ereditari în boala coronariană. Diferențele atît în arborizațiile mari, cît și în anastomozele intercoronariene pot explica vulnerabilitatea crescută a arborelui coronarian la efectele aterosclerozei. Observațiile mai vechi (39), indicînd o relație între infarctul miocardic și tipul arborizației coronariene, n-au fost urmate de date concludente. Constatarea recentă (3) a unor diferențe semnificative în distribuția de frecvență a diferitelor tipuri anatomice la tulpini diferite de animale (șobolani) sînt o dovadă a rolului factorului genetic, probabil prin mecanism poligenic. La om se vor putea aduce noi argumente, prin cercetări angiografice mai extinse (inclusiv la gemeni).

Asemenea variații anatomice moștenite pot fi unul din factorii ereditari importanți în determinarea susceptibilității sau rezistenței la ateroscleroză coronariană și infarct miocardic. Variantele anatomice pot crea condiții hemodinamice care favorizează dezvoltarea trombozelor și a ateroamelor (44). În schimb, prezența unei artere coronare primare adiționale sau a unei ramuri principale pot servi ca sursă potențială de circulație colaterală. Incidența scăzută a infarctului miocardic la negrii Bantu este posibil să aibă această bază (31).

În cadrul tulburărilor metabolice, grupul hiperlipidemiilor familiale, în care anomalia lipoproteică apare ca expresia primară a unui defect biochimic, merită o mențiune aparte din două motive: caracterul ereditar mult mai evident al acestora și relația particulară cu aterogeneza și boala coronariană.

Pentru cunoașterea lor și pentru cercetările clinice este necesară aprecierea cel puțin aproximativă a 4 grupe de lipoproteine, care se știe că sînt în legătură cu procese metabolice independente și deci care este posibil să fie expresia unor anomalii genetice specifice: α - și β - lipoproteinele solubile și 2 grupe de lipoproteine care transportă gliceridele de origine exogenă sau alimentară (chilomicronii) și pe cele de origine endogenă (prebetalipoproteinele). Cu ajutorul lor s-a putut face o clasificare practică în 5 tipuri distincte (12). Nu este exclus ca fiecareia din aceste fenotipuri să-i corespundă un genotip diferit, deși este mai probabil ca numărul tipurilor care se disting prin această metodă să fie prea mic pentru numărul de mutații posibile care se mai pot eventual descoperi. Acest sistem de clasificare, desigur provizoriu, de etapă, este însă util nu numai clinicianului, pentru orientarea practică, ci și geneticianului, căruia îi oferă o bază mai sigură de studiu, de la care genotipizarea se mai poate extinde.

Tipul I sau hiperlipemia indusă de grăsimi (rară în forma ei severă) se caracterizează prin chilomicronemia masivă la orice ingestie de grăsimi și se descoperă adesea în copilărie prin hepatosplenomegalie, xantoame eruptive, dureri abdominale etc. Este datorit unei doze duble a unei rare alele anormale.

Tipul al II-lea sau hipercolesterolemia familială esențială este caracterizat prin concentrația ridicată de β -lipoproteine și xantomatoză pronunțată. Ateromatoza este accelerată, boala coronariană apare la o vîrstă mai tînră și comportă o mortalitate ridicată (16), cu toată trigliceridemia normală. Modul de moștenire nu este precizat cu certitudine, dar sînt indicii că acest sindrom poate fi expresia unei singure gene, cu o frecvență relativ mare în multe părți ale lumii. O doză dublă din gena anormală duce probabil la expresia mai devreme a unei xantomatoze severe.

În tipul al III-lea sau hiperbeta- și prebetalipoproteinemia familială sau așa-zisa hipercolesterolemie familială cu hipertrigliceridemie se întîlnesc frecvent atît xantomatoza și cardiopatia ischemică, cît și o toleranță anormală la glucide (diabet ușor). Acest tip este încă incomplet lămurit din punct de vedere genetic și metabolic. Se emite ipoteza că s-ar putea datori adăugirii unei „gene diabetice” la genotipul tipului al II-lea. În acest caz, tipul al II-lea ar trebui să fie de 3—4 ori mai frecvent.

În tipul al IV-lea sau hiperprebetalipoproteinemia familială se constată — ca și în tipul al III-lea — o sensibilitate la ingerarea de hidrați de carbon și se poate întîlni un istoric familial de diabet. Diferențierea acestui tip de alte

sindroame, cât și relația lui cu diabetul sînt încă obiect de cercetare, al cărei interes rezidă în predispoziția spre boală coronariană la bărbații tineri pe care o revelează (fapt sugerat și de analize mai amănunțite ale lipidelor serice (1).

Tipul al V-lea sau hiperchilomicronemia și hiperbetalipoproteinemia familială reprezintă un aspect complex care sugerează predominanța unor defecte în metabolismul gliceridic atât exo-, cât și endogen. El poate fi expresia genotipurilor menționate, eventual combinate, sau a altor mutații. Modul de transmitere nu este încă precizat.

Sistematizări de genul acesteia reprezintă tendința de identificare a anomaliilor ereditare prin defectele lor biochimice primare, mai curînd decît prin manifestările lor superficiale.

Din cele de mai sus rezultă în mod evident că studiul factorilor genetici într-o boală comună ca ateroscleroza și boala coronariană este foarte dificil. Metodele de cercetare n-au ținut pasul cu cele din alte domenii ale geneticii umane.

Privite în perspectivă însă, problemele par că încep să aibă soluții. Acestea se conturează îndeosebi în două direcții principale: pe de o parte spre cercetările prospective, sistematice, de lungă durată, care sînt promițătoare datorită acumulării rapide de cazuri noi (la o frecvență globală de 50%, incidența anuală este de aproximativ 1,5%) iar pe de altă parte, interesul principal se îndreaptă mai puțin spre descoperirea în familii a formelor avansate de boală și mai mult spre aglomerarea familială a factorilor predispozanți și a defectelor metabolice fundamentale.

Descoperirea cât mai devreme posibil a predispoziției la dezvoltarea ulterioară a bolii manifeste constituie în același timp baza unor măsuri profilactice eficiente.

BIBLIOGRAFIE

1. Albrink M. J., Meigs J. W., Man E. B. — *Amer. J. Med.*, 1961, 31.
2. Bauer J. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1964, 89, 264.
3. Bloor C. M., Leon A. S., Pitt B. — *Circulation*, 1967, 36, 771.
4. Bock K. D. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1961, 87, 743.
5. Bock K. D. — *Internist*, 1968, 9, 86.
6. Boe J., Humerfelt S., Wederwang F. — *Acta med. scand.*, 1957, 157, 1.
7. Cederlöf R., Friberg L., Jonsson E. — *Arch. Environm. Hlth*, 1967, 14, 397.
8. Deutscher S., Epstein F. H., Kjelsberg M. O. — *Circulation*, 1966, 33, 911.
9. Doyle A. E., Frazer J. R. E. — *Lancet*, 1961, 2, 509.
10. Epstein F. H. — *Amer. Heart. J.*, 1964, 67, 445.
11. Epstein F. H., Kjelsberg M. O. — *Genetics and the Epidemiology of Chronic Diseases*, edit. J. V. Neel, M. W. Shaw, W. J. Schull, Public Health Service Publication, Washington, D. C., 1965.
12. Fredrickson D. S., Lees R. S. — *Circulation*, 1965, 31, 321.
13. Gershowitz H., Neel J. V. — *Acta genet. (Basel)*, 1965, 15, 261.
14. Hărăguș St., Popescu T. A., Ilea V., Olinic N. — *Med. interna (Buc.)*, 1969, 21, 37.
15. Hatch F. T. și colab. — *Circulation*, 1966, 33, 679.
16. Jensen J., Blankenhorn D. H., Komencz V. — *Circulation*, 1967, 36, 77.

17. Keen H., Rose G. — *Lancet*, 1959, 2, 1028.
18. Kuo P. T. — *J. Amer. med. Ass.*, 1967, 201, 87.
19. Kuo P. T., Feng L. — *Circulation*, 1967, 36, 167.
20. Kuo P. T. — *Ann. intern. Med.*, 1968, 68, 449.
21. McKusick V. A. — *Circulation*, 1960, 22, 857.
22. McKusick V. A. — *Circulation*, 1964, 30, 326.
23. McKusick V. A. — *Genetics and the Epidemiology of Chronic Diseases*, edit. J. V. Neel, M. W. Shaw, W. J. Schull, Public Health Service Publication, Washington, D. C., 1965.
24. Mendlowitz M., Gitlow S. E., Wolf R. L., Naftchi N. E. — *Amer. Heart J.*, 1964, 67, 397.
25. Miall W. E., Oldham P. D. — *Brit. med. J.*, 1963, 1, 75.
26. Moga A., Dobo S., Horovitz V., Rusu S. — *Viața med.*, 1952, 2, 57.
27. Moga A., Pitea P., Cofaru D., Simplăceanu A. — *Stud. Cercet. Med. (Cluj)*, 1959, 2, 166.
28. Moga A., Hărăguș St., Cofaru D., Orha I. — *Stud. Cercet. Med. (Cluj)*, 1960, 1, 7.
29. Morrison S. L., Morris J. N. — *Lancet*, 1959, 2, 864.
30. Ostfield A. M., Paul O. — *Lancet*, 1963, 1, 575.
31. Pepler N. J., Meyer B. J. — *Circulation*, 1960, 22, 14.
32. Pickering G. W. — *High Blood Pressure*, Churchill, Londra, 1955.
33. Pickering G. W. — *Brit. med. J.*, 1965, 2, 1021.
34. Platt R. — *Lancet*, 1959, 2, 55.
35. Platt R. — *Ann. intern. Med.* 1961, 55, 1.
36. Platt R. — *Lancet*, 1963, 2, 899.
37. Popescu T. A., Cucuianu M., Mihu S. — *Stud. Cercet. Med.*, 1969, X, 251.
38. Quinn R. W., Federspiel C. F. — *Amer J. Epidem.*, 1967, 85, 120.
39. Schlesinger M. G. — *Arch. Path.*, 1940, 30, 403.
40. Schweitzer M. D., Clark E. G., Gearing F. R., Perera G. A. — *J. chron. Dis.*, 1963, 15, 1093.
41. Slack J., Evans K. A. — *J. med. Genet.*, 1966, 3, 239.
42. Slack J. și colab. — *Lancet*, 1964, 2, 1033.
43. Spagnuolo M., Taranto A. — *New Engl. J. Med.*, 1968, 278, 183.
44. Texon M. — *A.M.A. Arch. intern. Med.*, 1957, 99, 418.
45. Thomas C. B., Cohen B. H. — *Ann. intern. Med.*, 1955, 42, 90.
46. White P. D. — *Circulation*, 1960, 22, 296.

APORTUL GENETICII ÎN PATOLOGIA DI- GESTIVĂ

O. Fodor, Stela Urcan

Importanța geneticii în medicina clinică a luat în ultimii ani o amploare din ce în ce mai mare, în bună parte drept urmare a progreselor deosebite ale geneticii biochimice. Astfel a rezultat un nou impuls pentru cercetarea mecanismelor de producere a îmbolnăvirilor și pentru dezvoltarea cunoștințelor de genetică, care poate contribui la precizarea diagnosticului, prognosticului și tratamentului. Aplicarea principiilor geneticii în gastroenterologie este cu atât mai necesară, cu cât bolile digestive cu componentă ereditară alcătuiesc un capitol care nu poate fi deloc neglijat, iar patogeneza multora dintre ele nu este încă suficient lămurită.

În ceea ce privește diagnosticul, noțiunile de genetică contribuie la recunoașterea semnelor interne în baza simptomelor exterioare care fac parte din sindromul ereditar sau intervin în recunoașterea manifestărilor timpurii, chiar preclinice, datorită antecedentelor și a aspectului familial al bolii (20). Cîteva exemple din patologia digestivă: în sindromul Peutz-Jeghers, diagnosticul poate fi sugerat de petele melanice ale mucoasei bucale, buzelor și degetelor care însoțesc această polipoză intestinală; în boala Wilson, afectarea ficatului este însoțită de manifestări neurologice și de prezența inelului cornean Kaiser-Fleischer; în cadrul icterelor, cunoașterea formelor familiale permite diagnosticul diferențial al acestora (ictere hemolitice, virale sau de altă natură). În cazul ulcerului duodenal, prezența bolii la mai multe persoane din aceeași familie poate sugera diagnosticul la unul din membrii familiei înainte de apariția ulcerăției doar pe baza semnelor clinice și biologice.

Aportul geneticii în problemele de prognostic al bolilor digestive este mai redus și îmbracă un aspect particular, acela al consultației genetice, adică posibilitatea de a prevedea care este riscul ca o persoană să posede un astfel de genotip încît să transmită boala urmașilor sau să o facă el însuși mai tîrziu, sau care este posibilitatea ca într-o familie în care s-a născut un copil cu o boală ereditară, următorii să fie afectați în mod similar. Cunoașterea substratului biochimic al bolii permite în unele cazuri depistarea heterozigoților aparent sănătoși, dar purtători ai tarei ereditare. Această detectare a

heterozigoților este importantă nu numai pentru descoperirea genelor anormale în populație, ci și pentru descifrarea mecanismelor patogene.

Pentru a putea demonstra rolul eredității în producerea unei boli, studiul arborilor genealogici este absolut necesar. Incidența bolii printre rudele probantului trebuie să fie semnificativ mai mare decât în populația generală. De asemenea trebuie să se dovedească că nu factorii de mediu sînt cei responsabili pentru incidența crescută a bolii. Certitudinea cu care se poate susține rolul eredității depinde de precizia cu care a fost exclus rolul determinant al factorilor de mediu. Bolile comune cu componentă ereditară sînt în general multifactoriale, iar factorii de mediu intervin în special în influențarea variabilității și expresivității bolii într-o populație.

În patologia digestivă pot fi întâlnite toate categoriile de boli genetice: boli caracterizate prin aberații cromozomiale, erori înnăscute de metabolism și boli cu ereditate poligenică. Deși bolile cu ereditate simplă, prin genă unică au o incidență foarte scăzută, luate în totalitate, împreună cu cele plurifactoriale, constituie un domeniu vast, variat și foarte adesea obscur, care pune medicului serioase probleme. În cele ce urmează vor fi trecute în revistă doar acele boli care prezintă un interes mai deosebit pentru practica medicală și în care cercetările ultimilor ani au adus în discuție probleme interesante privind mecanismele etiopatogenetice.

A. PATOLOGIA FICATULUI

Ficatul, organ cu rol cheie în procesele metabolice ale organismului, cu multiplele și complicatele sale sisteme enzimatice, este de așteptat să fie coafectat în numeroase erori de metabolism înnăscute. El poate fi de asemenea sediul unor malformații congenitale. Dintre numeroasele boli ereditare cu interesare hepatică se va insista mai ales asupra acelor în care suferința hepatică este în prim plan, cum ar fi hemocromatoza, boala Wilson, porfiriile hepatice, hiperbilirubinemiile și vor fi menționate doar în treacăt alte boli de teaurizare, cele morfodisplazice sau alte boli generale cu interesare hepatică.

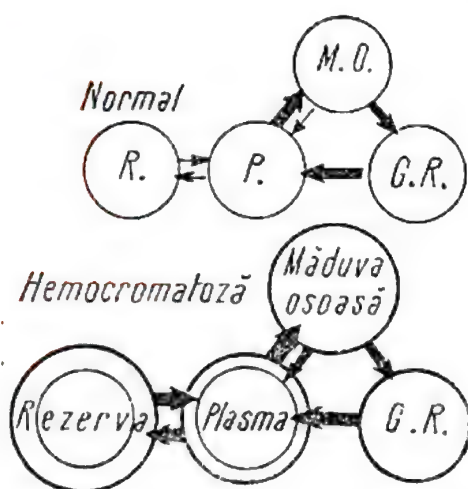


Fig. XIII, 1. Cinetica Fe în hemocromatoză [după Pollicove (24)].

Hemocromatoza primară idiopatică este o eroare înnăscută a metabolismului mineral cu absorbție și înmagazinare crescute de fier în organism (fig. XIII, 1). Clinic se manifestă prin ciroză hepatică cu diabet și pigmentare cutanată (diabet bronzat). Ea trebuie diferențiată de bolile prin teaurizare de fier

Distribuția fierului în bolile cu înmagazinare de fier
(după Scheuer și Williams) (26)

Boala	Distribuția fierului			
	SRE	Ficat	Extrahepatic	Lezuni tisulare
I. Hemocromatoza idiopatică	—	+	+	+
II. Depunere de fier însoțind anemia				
Sideroză asociată cu anemie				
1. Genetică	—	+	0 la +	—
2. Cîștigată	+	± la +	0 la +	—
Hemocromatoză însoțind anemia				
1. Genetică	± la +	+	+	+
2. Cîștigată	+	+	+	+
III. Depunere de fier însoțind boala Bantu				
Sideroză Bantu	+	+	—	—
Hemocromatoză Bantu	+	+	+	+
IV. Depunere de fier asociată cu ciroza hepatică				
Ciroza pigmentară	+	+	—	+
Hemocromatoză asociată cu ciroză	± la +	+	+	+

coasa intestinală nu este încă elucidat. Ar putea fi vorba de o incapacitate a celulei intestinale, determinată genetic de a forma feritina (7). Fierul absorbit circulă în mod normal, legat de fracțiunea β -globulinică, numită transferină. Este cunoscut astăzi polimorfismul transferinelor serice existînd cel puțin 17 forme (6, 31), astfel că diversele variante ar putea fi implicate în hemocromatoză, fapt încă nedovedit (19). Alți autori presupun absența din suc gastric

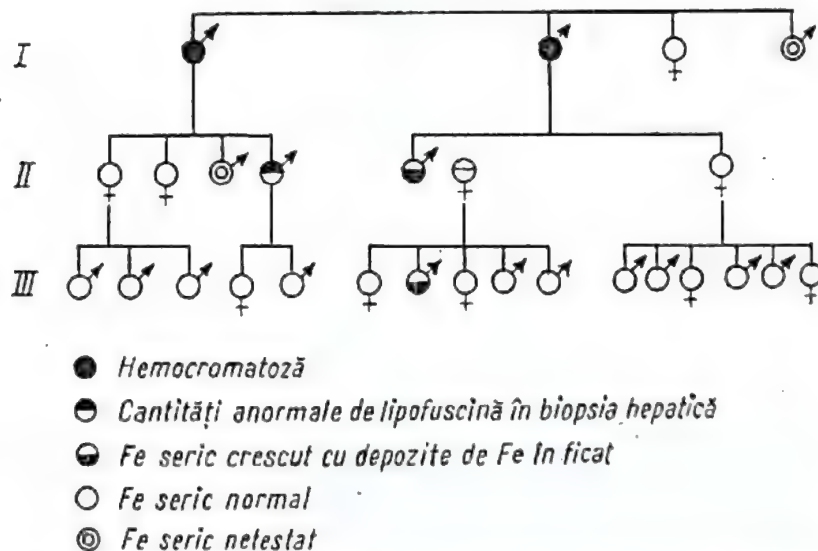


Fig. XIII, 2. Arborele genealogic al unei familii cu hemocromatoză [după Johnson și Frey (15)].

a unei substanțe gastroferina, care în mod normal ar avea rolul de a fixa fierul, reglând astfel absorbția sa intestinală (9, 22). Boala este de 10 ori mai frecventă la bărbați decât la femei. Caracterul familial al bolii este menționat pentru prima dată în 1922 (15) și subliniat apoi de numeroși autori (11, 23, 24, 29). Nu toți membrii unei familii prezintă tabloul clinic complet. Unii au doar semne izolate, ca hepatomegalie, pigmentarea pielii sau numai nivelurile crescute ale fierului seric sau depozite crescute de fier la biopsia hepatică (fig. XIII, 2). Majoritatea studiilor aduc dovezi care confirmă că ereditatea joacă un rol important în hemocromatoză. Boala s-ar datori mai probabil unei gene unice cu transmitere dominantă, iar prezența bolii la copii s-ar datori stării de homozigot. Gena este probabil cu penetranță largă, dar numai parțial exprimată, astfel că boala rămâne multă vreme latentă. Există și autori (17) care susțin că boala s-ar datori numai factorilor externi, ingerarea crescută de fier împreună cu alți factori predispozanți la ciroză, ca alcoolismul, malnutriția, hepatita etc. Factorul ereditar nu poate fi negat, dar e foarte probabil ca factorii de mediu să contribuie la dezvoltarea bolii la bolnavii predispuși, prin moștenirea genei, pentru hemocromatoză.

Boala Wilson sau degenerescența hepatolenticulară este o eroare înăscută a metabolismului cuprului, asociată cu ciroză hepatică, manifestări neurologice și prezența inelelor corneene Kayser-Fleischer. Efectul primar al genei este deficitul de ceruloplasmină, proteina transportoare a cuprului. Pe lângă nivelul scăzut al ceruloplasminei sanguine, boala se mai caracterizează prin scăderea cuprului plasmatic total, excreție crescută de cupru și depuneri foarte mari în anumite țesuturi (fig. XIII, 3). Ficatul joacă un rol dublu în

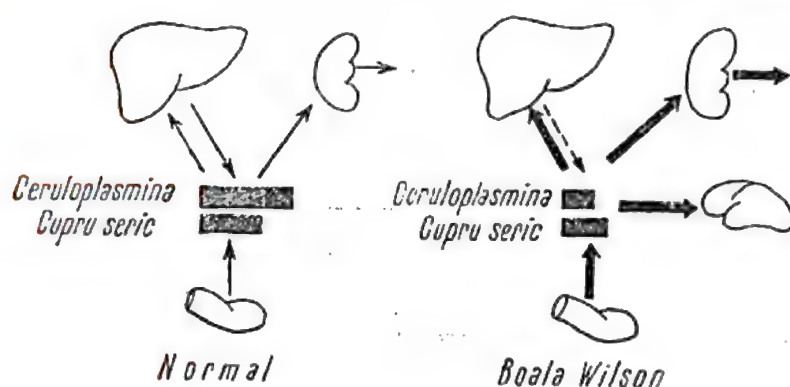


Fig. XIII, 3. Metabolismul cuprului în boala Wilson (33).

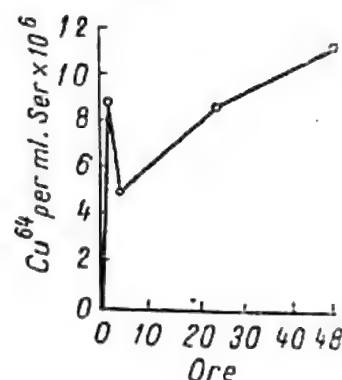


Fig. XIII, 4. Concentrațiile medii ale Cu^{64} seric la 19 persoane de control după ingerarea a 2 mg acetat de Cu^{64} [după Sternlieb (31)].

patogeneza bolii, prin incapacitatea sa de a sintetiza ceruloplasmină și prin efectele toxice ale depunerilor excesive de cupru care duc în cele din urmă la ciroză (33). Studiile de cinetică a metabolismului cuprului radioactiv administrat oral permit detectarea heterozigoților, precum și diagnosticul precoce al homozigoților pentru gena anormală încă din faza preclinică asimptomatică (fig. XIII, 4; XIII, 5; XIII, 6).

Boala este familială, transmisă recesiv. Într-o statistică pe 30 de familii în care existau 14 căsătorii consanguine s-au întâlnit 32 de cazuri (4). Boala Wilson este un exemplu elocvent al interacțiunii eredității și mediului, precum și al rezultatelor bune terapeutice care se pot obține într-o boală ereditară. Tratamentul cu BAL și mai ales cu penicilamină pentru mobilizarea depozi-

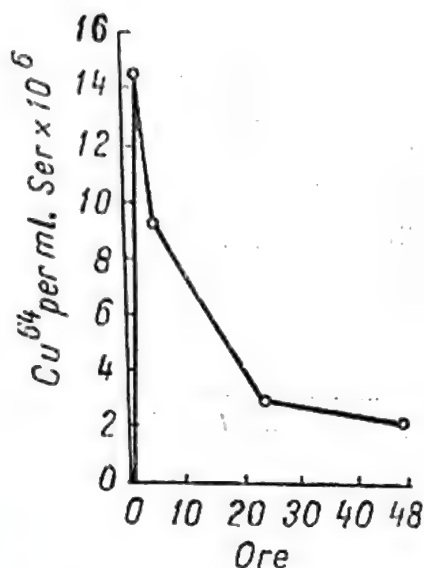


Fig. XIII, 5. Concentrațiile medii ale Cu^{64} seric la 7 bolnavi cu boala Wilson după ingerarea a 2 mg acetat de Cu^{64} [după Sternlieb (31)].

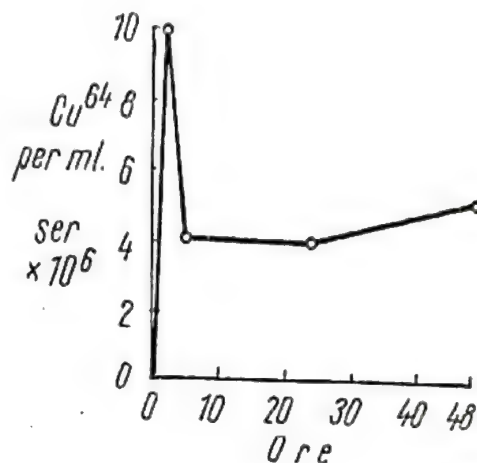


Fig. XIII, 6. Concentrațiile medii ale Cu^{64} seric la 19 heterozigoți (părinții bolnavilor cu boala Wilson), după ingerarea a 2 mg acetat de Cu^{64} [după Sternlieb (31)].

telor excesive de cupru din organism poate ajuta bolnavul să ducă o viață normală și poate preveni chiar declanșarea manifestă a bolii, dacă depistarea a fost precoce (36).

Porfiriile, erori înăscute ale metabolismului porfirinelor cuprind forme în care organul cel mai afectat este ficatul. Ele constituie un grup de boli a căror definire și nomenclatură nu sînt încă definitiv stabilite. Porfiriile constituționale, moștenite trebuie delimitate de porfirinurii, stări simptomatice cîștigate (35). În acest al doilea grup, porfirinele sînt crescute în umori secundar altei boli sau intoxicațiilor cu plumb sau alte substanțe chimice care produc tulburări ale metabolismului nucleului pirolic.

Porfiriile hepatice ereditare se clasifică în trei tipuri: porfirie acută intermitentă sau tipul suedez, *porfirie variegata* sau tipul sud-african și *porfirie cutanea tarda*. Acestea, la rîndul lor, trebuie deosebite de alte tipuri ereditare, cum este porfirie eritropoietică în care deși există depozite de porfirine în multe organe, inclusiv în ficat, simptomele clinice impresionante sînt cele cutanate. Porfiriile ereditare hepatice mai trebuie diferențiate de cele cîștigate, cum este porfirie „turcă” care s-a produs sub forma unei adevărate epidemii datorită ingerării pîinii făcută din grîul contaminat cu un fungicid, hexaclorbenzenul (27).

— *Porfiriea acută intermitentă*, piroporfiriea sau tipul suedez este mai frecventă în țările nordice (Suedia, Danemarca), dar și în alte țări din Europa, America, Australia (35, 37). Clinic se traduce prin colici abdominale puternice și tulburări nervoase severe care pot fi declanșate de barbiturice, precum și prin eliminare crescută de acid Δ -aminolevulinic și porfobilinogen

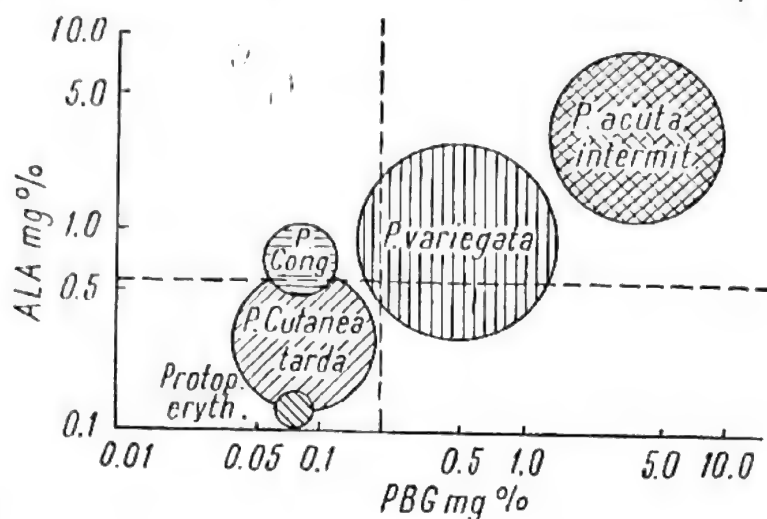


Fig. XIII, 7. Eliminarea porfirinelor în porfiriile ereditare (34).

(fig. XIII, 7). Modul de transmitere este autozomal dominant, cu o penetranță care poate varia foarte mult. Determinarea excreției de porfobilinogen este utilizată pentru detectarea persoanelor cu forma latentă asimptomatică, dar purtătoare ale genei mutante. Aspectul bolii diferă mult de la țară la țară și chiar de la familie la familie.

— *Porfiriea variegata* are o frecvență foarte mare în Africa de Sud, la populația albă, dar este prezentă și în Olanda, ca și în alte țări. Boala manifestă se caracterizează prin fenomene abdominale, nervoase și cutanate declanșate și aici de barbiturice și anestezice generale, ca și printr-o excreție crescută de copro- și protoporfirine. Un studiu remarcabil al populației din Africa de Sud (10) arată că toate cele 8 000 de cazuri de *porfiriea variegata* din această regiune descind dintr-un singur cuplu de buri, stabiliți acolo în 1688. Această boală este un exemplu ilustrativ despre efectele unei singure mutații într-o populație anumită cu o înmulțire rapidă, așa cum s-a petrecut acolo, unde aproximativ 1 000 000 din cele 3 000 000 de albi sînt descendenții a numai 40 de cupluri stabilite în Africa acum cîteva sute de ani.

— *Porfiriea cutanea tarda* este mai rară decît tipurile precedente. Caracteristicile clinice mai importante sînt simptomele cutanate și apariția tardivă în cursul vieții. Interesarea hepatică se traduce prin fibroză, icter ușor, retenție de bromsulfonftaleină în fazele active și evidențierea porfirinelor la biopsia hepatică. Boala are caracter familial, este mai frecventă la bărbați și este indusă adesea prin alcool, ceea ce i-a făcut pe unii să o considere exogenă, astfel că baza ei genetică mai trebuie fundamentată.

Glicogenozele. Ficatul este sediul unei foarte active sinteze a glicogenului, ca și a degradării lui prin enzimele fosforolitice și hidrolitice (fig. XIII, 8). Glicogenozele sînt boli de înmagazinare a glicogenului în țesuturi, congenitale și familiale. De la descrierea lui Von Gierke, în 1929, a unei boli familiale caracterizată prin acumulare de glicogen în ficat cu hepatomegalie, hipogli-

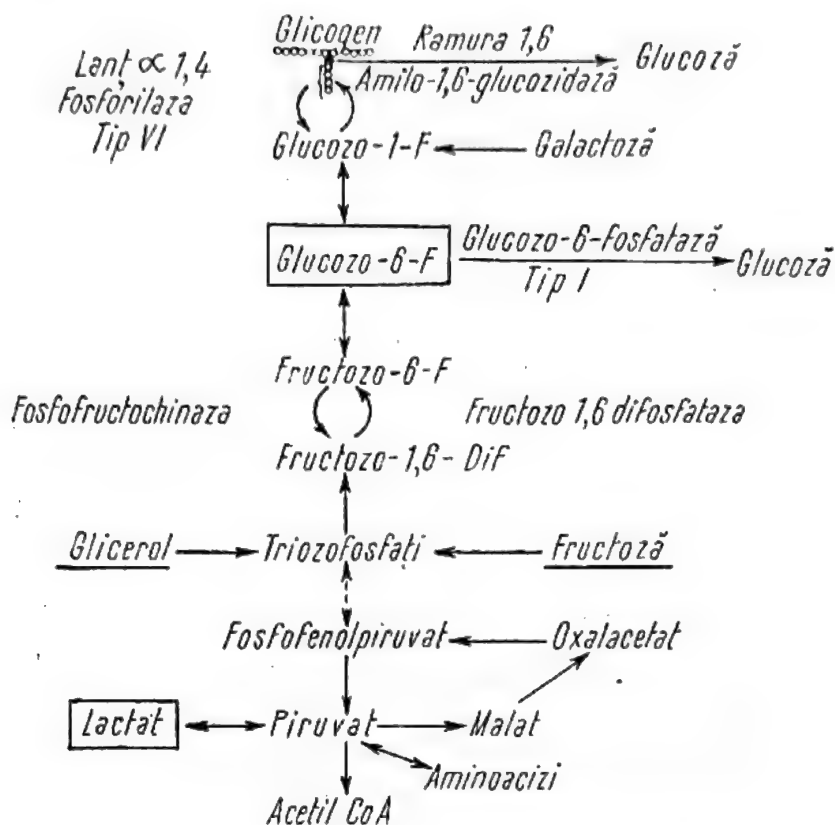


Fig. XIII, 8. Căile majore ale metabolismului glicogenului (27).

cemie și tulburări de creștere, lista glicogenozelor a fost completată pînă la 9 tipuri, cu denumirea și deficitul enzimatic corespunzător (tabelul XIII, 2). În toate acestea, cu excepția tipului al 5-lea (sindromul McArdle), este afectat și ficatul. Termenul de glicogenoze hepatice se aplică însă următoarelor trei tipuri: tipul I sau boala Von Gierke, cauzată de deficitul de glucozo-6-fosfatază; tipul al III-lea, boala Cori, boala Forbes sau limitdextrinoza cu deficit de amilo-1,6-glucozidază; tipul al VI-lea sau boala Hers, dată de deficitul în fosforilază. Pentru diferențierea acestor tipuri, în afara determinărilor enzimatice se utilizează și testele funcționale ale utilizării glicerolului (28). Glicogenozele sînt boli foarte rare, frecvența lor probabil nu depășește cifra de 1/10 000. Modul de transmitere este autozomal-recesiv.

Ficatul este afectat și în alte boli familiale de teaurizare, de exemplu în sindromul Hurler sau în lipidozele familiale.

Clasificarea glicogenozelor
(după Badual și Lestrade) (3)

Tip	Denumirea	Deficit enzimatic	Sediul leziunii
I	B. von Gierke (glicogenoza hepatorenală)	Glucozo-6-fosfataza	Ficat, rinichi, intestin
II	Glicogenoze generalizate: 1. B. Pompe (glicogenoza cardiacă) 2. Glicogenoza neuro-musculară	α -glucozidaza	În majoritatea ţesuturilor, ficat şi leucocite
III	Limitdextrinoza, (boala Cori, boala Forbes)	Amilo-1,6-glucozidaza	Ficat, muşchi, eritrocite, leucocite
IV	Amilopectinoza (boala Andersen)	Amilo-1,4-1,6 transglucozidaza	Ficat, sistemul reticulo-histiocitar, eritrocite
V	Sindromul McArdle	Fosforilaza	Muşchi
VI	Boala Hers	Fosforilaza	Ficat, leucocite
VII	Glicogenoze asemănătoare tipului VI cu încărcare asociată		glicogenică musculară
VIII	Tipurile propuse de Hug şi colab.	Defect de activare a fosforilazei hepatice corectat <i>in vivo</i> prin glucagon (?)	
IX		Defect de activare a fosforilazei hepatice corectat numai <i>in vitro</i> (?)	

Hiperbilirubinemiile familiale ocupă un loc deosebit în cadrul patologiei ereditare hepatice. Acest capitol include şi hiperbilirubinemiile hemolitice, ca sferocitoza ereditară, anemiile hemolitice ereditare nesferocitare, hemoglobinopatiile etc. Anemiile hemolitice ereditare, de un interes deosebit pentru diagnosticul diferenţial faţă de restul hiperbilirubinemiilor, au fost expuse în altă parte, aşa că aici vor fi dezvoltate numai hiperbilirubinemiile familiale nehemolitice.

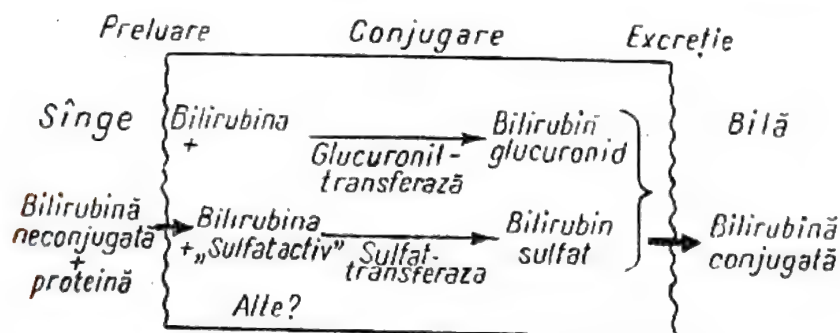


Fig. XIII, 9. Reprezentarea schematică a metabolismului bilirubinei în ficat (2).

Calea bilirubinei de la sînge spre căile biliare trece în mod normal prin celula hepatică. Acest traseu implică preluarea şi transportul prin celulă, conjugarea la nivelul microzomilor şi apoi excreţia în canaliculul biliar (fig. XIII, 9). Traversarea membranelor hepatocitului atît la intrare, cît şi la

excreție se face prin procese de transport activ încă incomplet elucidate. Aceste mecanisme sînt deosebite și independente, dovadă că ele pot fi alterate separat. Redăm mai jos o clasificare a hiperbilirubinemiilor familiale.

Clasificarea hiperbilirubinemiilor familiale
(după Scheuer și Williams) (26)

TABELUL XIII, 3

Tip	Bilirubină serică mg/100 ml	Defectul	Histologia	Modul de transmitere
Neconjugate				
Neonatală tranzito- rie (G-6-PD)	10-40	Hemoliză și alți factori	Normal	Nu se cunoaște
Neonatală tranzito- rie (inhibitor)	12-65	Inhibarea conju- gării	Normal	Nu se cunoaște
Crigler-Najjar	16-45 1-4	Deficit de glucu- ronil-transfe- rază.	Normal	Recesiv
Gilbert		Defect al preluării	Normal	Dominant cu pene- tranță incom- pletă
Hiperbilirubinemie șuntată	2-3	Exces de formare	Sideroză	Nu se cunoaște
Conjugate				
Neonatală tranzi- torie	6-22	Blocaj excretor	Normal	Nu se cunoaște
Dubin-Johnson	2-19	Blocaj excretor	Pigment negru	Dominant cu pe- netranță incom- pletă
Rotor	2-24	Blocaj excretor	Normal	Dominant cu pene- tranță incom- pletă
Colestaza recurentă idiopatică	8-23	Leziune celulară difuză	Colestază	Nu se cunoaște

Hiperbilirubinemia tranzitorie apare la mai mulți frați din aceeași familie din prima zi a vieții și de obicei icterul dispare fără sechele după mai multe luni de la naștere. În serul acestor copii se pune în evidență un factor inhibitor al conjugării bilirubinei. Se discută o ereditate recesivă sau legată de sex sau o ereditate citoplasmică sau poate o cauză negenetică, factorul inhibitor provenind din laptele mamei.

Hiperbilirubinemia primară șuntată, tradusă prin icter și o eliminare crescută de urobilinogen în fecale și urină, are la bază o producere excesivă din alte surse decît hemul hematiilor circulante.

Sindromul Crigler-Najjar este o hiperbilirubinemie neconjugată severă, în care copiii sucombă precoce cu icter nuclear în primul an de viață. Glucuroniltransferaza, enzima responsabilă pentru conjugarea bilirubinei este deficitară în hepatocit. Defectul de conjugare a fost demonstrat și pentru alte substanțe care, de obicei, sînt conjugate în ficat. În primele 7 cazuri descrise, tendința

familială era evidentă, ele provenind din 3 familii înrudite. Într-una din familiile studiate s-a descoperit defectul conjugării prin testul cu mentol la ambii părinți, bunici și 6 frați. Sînt descrise și cazuri care au supraviețuit pînă la vîrsta adultă.

Boala Gilbert sau colema simplă familială este cea mai frecventă din hiperbilirubinemiile congenitale neconjugate și se prezintă ca un icter ușor inter-

mitent cu caracter familial. Natura exactă a deficitului nu este precizată, dar se crede că se manifestă la nivelul preluării bilirubinei de către hepatocit. Modul de transmitere este nesigur. Familii în care boala a fost prezentă de-a lungul a 4 generații (fig. XIII, 10) sau în care mama și 7 din cei 8 copii ai unui icteric au avut aceeași boală sugerează dominanța. Se afirmă că boala Gilbert nu este o singură entitate, ci reprezintă mai multe stări dintre care una ereditară, și că hiperbilirubinemia posthepatitică este o variantă a bolii (30). Această relație a bolii Gilbert cu hiperbilirubinemia posthepatitică prezintă interes diagnostic, întrucît dacă un bolnav cu boala Gilbert face o infecție, icterul se intensifică, putînd simula o hepatită virală. Există autori care cred că boala Crigler-Najjar și boala Gilbert reprezintă una și aceeași boală, prima în formă homozigotă iar a doua în formă heterozigotă.

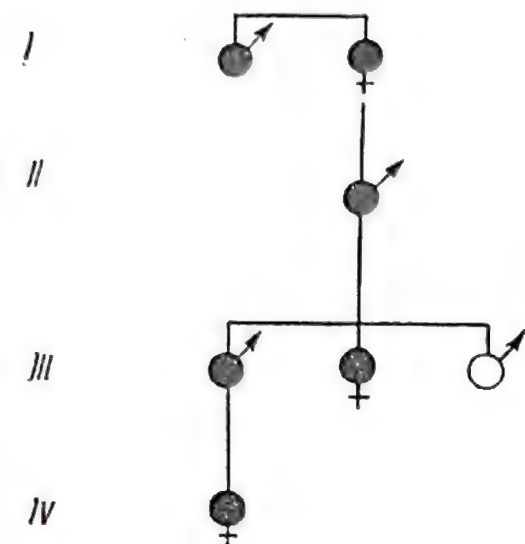


Fig. XIII, 10. Arborele genealogic al unei familii cu boala Gilbert [după Manson (17)].

Sindroamele Dubin-Johnson și Rotor par să fie variante ale aceleiași boli. Ele se deosebesc doar prin datele biopsiei hepatice. În primul rînd, ficatul are o culoare negricioasă și pe secțiunile microscopice se văd depuneri de pigment brun-negru, în special în zonele centrolobulare, în timp ce în sindromul Rotor, ficatul nu conține asemenea depuneri. Defectul se manifestă la nivelul

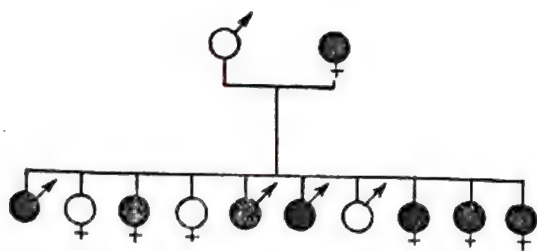


Fig. XIII, 11. Arborele genealogic al unei familii cu boala Dubin-Johnson [după Wolf (37)].

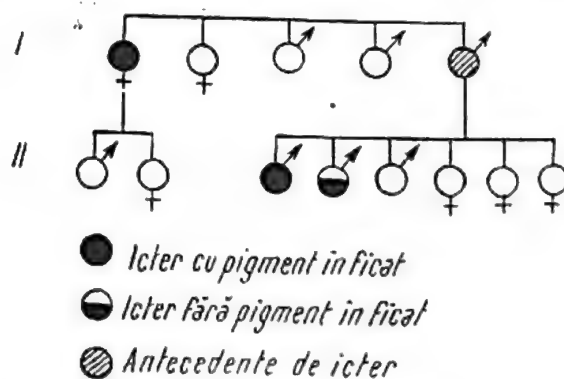


Fig. XIII, 12. Arborele genealogic al unei familii în care se găsesc atât cazuri cu icter tip Dubin-Johnson, cît și tip Rotor [după Arias (1)].

excreției bilirubinei din hepatocit, astfel că bilirubina conjugată regurgitează în curentul sanguin. Defectul excretor se referă și la bromsulfonftaleină și la agenții colecistografici. Pigmentul din sindromul Dubin-Johnson este probabil un produs de retenție care diferă structural și histochimic de lipofuscină și care ar fi înrudit cu melanina și catecolaminele. În aproximativ o treime din cazuri se poate arăta caracterul familial al bolii, modul de transmitere fiind dominant, cu penetranță incompletă și expresie variabilă (fig. XIII, 11). Prezența consanguinității în unele familii ar sugera celălalt mod, recesiv, fără ca primul să poată fi exclus. Prezența în aceeași familie a ambelor tipuri, cu și fără depunere de pigmenti în ficat, întărește supoziția că ele sînt variante ale aceleiași boli (fig. XIII, 12).

Lista bolilor hepatice genetice ar mai putea fi continuată cu cele caracterizate prin morfogeneză anormală, cum sînt: ficatul polichistic, fibroza hepatică congenitală, atrezia căilor biliare, hepatita neonatală cu celule gigante sau cu boli ereditare cu caracter general, în care este interesat și ficatul (telangiectazia ereditară tip Rendu-Osler, mucoviscidoza etc.).

B. PATOLOGIA INTESTINULUI

ANOMALIILE EREDITARE ALE ABSORBȚIEI INTESTINALE

Un alt capitol important al geneticii tubului digestiv este acela al *anomaliilor ereditare ale absorbției intestinale*. Deși sînt rare, ele au un mare interes în relație cu mecanismele absorbției intestinale la om. Cercetările acestor mecanisme constituie unul dintre cele mai palpabile sectoare ale investigației curente și au dus la reale progrese în cunoașterea fiziologiei digestive. Se acordă astăzi o mare importanță membranei absorbtive a celulei intestinale cu microvilii ei, care alcătuiesc așa-zisa margine în perie și care este considerată un organit separat, cu rol în transportul activ al substanțelor nutritive. Digestia nu este un proces strict intraluminal, ci ea se continuă și în interiorul celulei intestinale. Astfel, scindarea inițială a hidraților de carbon în poli- și dizaharide are loc în lumenul intestinal, dar hidroliza dizaharidelor în monozaharide este un proces intracelular, locul hidrolizei fiind membrana marginală „în perie”, zona cea mai bogată în dizaharide (5). Lipidele sînt și ele modificate în cursul trecerii prin mucoasa intestinală. Gliceridele intrate în celulă suferă o hidroliză completă și o resinteză rapidă în fosfolipide și trigliceride pînă la formarea de chilomicroni capabili să treacă apoi în limfatice. Proteinele de asemenea nu sînt totdeauna scindate complet în lumen, o parte intră în celulă ca dipeptide, scindarea finală în aminoacizi fiind o funcție a peptidelor intracelulare. Absorbția prin mucoasă nu se face numai prin difuziunea pasivă, ci, pentru majoritatea substanțelor nutritive, prin procese de transport activ, prin membrana celulară față de un gradient electrochimic, procese care necesită o energie furnizată de către metabolismul celular. Sistemele de transport activ au fost demonstrate pentru glucoză, galactoză și altele, configurația moleculară a zahărului jucînd un rol important în acest transport. Acest meca-

nism este în special important pentru transportul glucidelor din celulă în sânge. Aminoacizii sînt de asemenea absorbiți din lumen prin transport activ. Există un sistem de transport comun pentru aminoacizii neutri (leucină, metionină, triptofan), acesta fiind stereospecific, și un sistem separat de transport pentru aminoacizii bazici (lizină, arginină, cistină, ornitină). Alte sisteme de transport activ există pentru absorbția acizilor grași, vitaminei B₁₂, fierului, calciului, sodiului etc. În aceste procese de digestie și absorbție sînt implicate sisteme enzimatice numeroase și complexe, astfel că se înțelege de ce descoperirea unor erori înăscute enzimatice în acest domeniu nu este surprinzătoare, după cum nu este surprinzător nici faptul că au fost descoperite atît de tîrziu, pentru că tulburările absorbtive au fost multă vreme mascate de cele produse de malnutriție și mai ales de infecție. În cadrul malabsorbției intestinale mai merită menționat faptul că defectul de transport intestinal se însoțește adeseori de un defect renal, deoarece mecanismul absorbției pentru unele substanțe este similar în intestin cu cel din tubulii renali.

Redăm mai jos o clasificare a *anomaliilor ereditare ale absorbției intestinale* (2):

1. Tulburări ale absorbției hidraților de carbon:
 - a) malabsorbția glucozei și galactozei;
 - b) defecte ereditare ale absorbției intestinale a dizaharidelor.
2. Tulburări ale absorbției intestinale a aminoacizilor.
3. Tulburări ereditare ale absorbției intestinale a grăsimilor.
4. Boli ereditare ale pancreasului, cauzînd malabsorbția intestinală.
5. Boli ereditare ale absorbției electroliților:
 - a) alcaloza congenitală cu diaree (clorhidroreea congenitală);
 - b) defecte ereditare ale absorbției de calciu și fosfor;
 - c) defecte ereditare ale absorbției de fier și cupru.
6. Defecte ereditare ale absorbției de vitamină B₁₂.

1. TULBURĂRI ALE ABSORBȚIEI HIDRAȚILOR DE CARBON

a) **Boala malabsorbției glucozei și galactozei**, descrisă pentru prima dată în 1962, se caracterizează printr-o diaree profuză, apoasă, care apare imediat după ingestia de lapte; scaunele numeroase acide conțin glucoză, galactoză și acid lactic, dar nu dizaharide. Există și glicozurie, fără alte tulburări renale. Defectul de bază este limitat la locul de intrare în celula mucoasei: marginea în perie. Coincidența glicozuriei implică similaritatea de transport a glucozei în intestin și rinichi. Diareea se datorește efectelor osmotice ale monozaharidelor neabsorbite și acizilor organici produși sub acțiunea bacteriilor. Există consanguinitate, sugerînd modul de transmitere recesiv.

b) **Defecte ereditare ale absorbției dizaharidelor**. Deficitul dizaharidelor din marginea „în perie” a epiteliului intestinal produce alactazia ereditară, intoleranța ereditară la lactoză, intoleranța la sucrază, intoleranța la fructoză. În alactazia ereditară, datorită absenței lactazei din enterocit, se produce o intoleranță la lapte cu diaree fermentativă severă. Dintre fracțiunile lactazice separabile cromatografic este deficientă probabil lactaza I. Intoleranța eredi-

tară la lactoză este distinctă de alactazie, însoțindu-se de excreție urinară de lactoză, de aminoacidurie și steatoree. Se constată la biopsie o turtire a vililor duodenali și jejunali. Intoleranța la sucroză, dată de un deficit al sucrazei, este de obicei însoțită și de un defect al izomaltazei. Există diaree fermentativă dacă alimentația conține sucroză, dextrine, amidon. Detectarea acestor defecte ale dizaharidazelor este mai dificilă, deoarece ele nu sînt secretate, astfel că trebuie utilizată metoda biopsică (8). Faptul că nu totdeauna deficitul enzimatic este unic, ca în intoleranța la lactoză, ci uneori sînt afectate mai multe enzime, indică un mecanism de control genetic mai complicat pentru unele din dizaharidazele intestinale. Este posibil ca aceste enzime să posede un lanț polipeptidic comun, asupra căruia acționează gena mutantă, sau poate exista un sistem de izoenzime alcătuite din proporții diferite ale acelorași lanțuri polipeptidice, din care numai unul a fost afectat de gena mutantă.

2. DEFECTE ALE TRANSPORTULUI AMINOACIZILOR

Există mecanisme diferite de absorbție pentru aminoacizii neutri și dibazici, cît și pentru prolină hidroxiprolină, astfel că defectele acestor mecanisme vor da aspecte clinice diferite. Boala Hartnup se caracterizează prin transportul defectuos al acizilor aminați monoamino-monocarboxilici în intestin și tubulul renal proximal, defectul mai important fiind acela al absorbției triptofanului prin mucoasa jejunală. Modul de transmitere este autozomal-recesiv. Clinic se prezintă ca un raș pelagroid ereditar, cu ataxie cerebeloasă temporară, aminoacidurie renală și alte caractere biopsice. Defectul transportului după administrarea orală a triptofanului a fost demonstrat prin următoarele efecte: triptofanul scăzut în plasmă și prezent în fecale, exces de indol și acid indolacetic în scaun, produși ai metabolismului bacterian ai triptofanului, precum și creșterea indicelui urinar și acidului indolilacetic (21). Rașul pelagroid se datorește cantității mici de triptofan disponibil pentru sinteza nicotinamidei, iar semnele neurologice s-ar putea datori intoxicației prin absorbția în exces din colon a produșilor de degradare a aminoacizilor, ca histamina, tiramina, indolul etc.

Cistinuria se caracterizează prin defectul de transport al acizilor aminați bibazici: cistina, lizina, ornitina, arginina, defect localizat atît în jejun, cît și în tubulul renal. Simptomele sînt puține: bolnavii sînt mai mici de statură și au tendința de a forma calculi renali. Modul de transmitere este autozomal-recesiv. Boala are cel puțin trei varietăți separate: tipul I în care este complet abolit transportul tuturor aminoacizilor bibazici prin mucoasa jejunală; tipul al II-lea concentrează cistina în jejun, dar nu și lizina și arginina; tipul al III-lea acumulează toți trei aminoacizii, dar excretă în urină cantități mari de lizină și cistină.

3. TULBURĂRI EREDITARE ALE ABSORBȚIEI INTESTINALE A GRĂSIMILOR

Abetalipoproteinemia, o boală care apare în copilărie, se caracterizează prin absența din plasmă a β -lipoproteinelor, cu plasmă clară, steatoree, la care ulterior se adaugă ataxia cerebeloasă, neuropatia periferică, acantocitoza

(fig. XIII, 13), retinita pigmentară. Defectul de bază constă în lipsa de formare a chilomicronilor în mucoasă sau de eliberare înspre vasele limfatice. Acantocitoza este rezultatul concentrației scăzute a lipidelor din plasmă și a modificării structurii membranei hematiei, iar modificările nervoase și retiniene ar fi date de deficiența acizilor grași esențiali și vitaminelor liposolubile. Biopsia prin aspirație arată o acumulare netă de lipide în celulele mucoasei jejunale mai ales în vârful vililor.

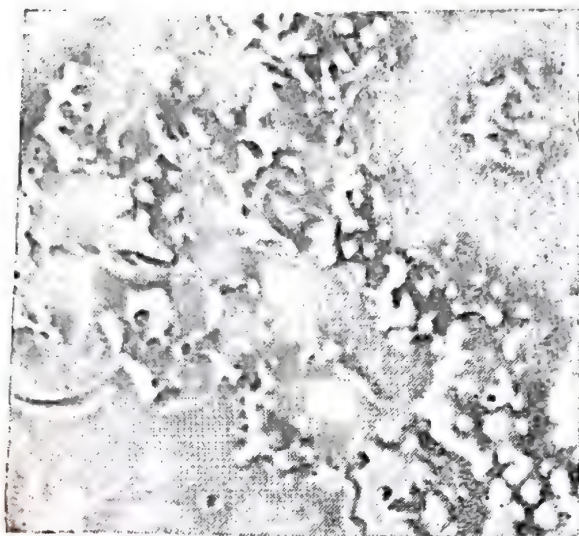


Fig. XIII, 13. Acantocitoză prin absență congenitală de β -lipoproteine [după Frézal (14)].

4. BOLI EREDITARE ALE PANCREASULUI

În mucoviscidoză, boală generalizată a glandelor exocrine, (manifestată prin fibroză pancreatică, mucus vâscos, infecții respiratorii, eliminare crescută de sodiu și clor prin transpirație), lipsesc enzimele pancreatice: lipaza, tripsina, chimotripsina. Această carență enzimatică duce la steatoree, care apare de obicei în primul an al vieții, cu malnutriție și lipsa de dezvoltare. Pancreatita

ereditară recidivantă se însoțește și ea de absența enzimelor pancreatice. A fost descris și un deficit de lipază pancreatică în câteva cazuri.

5. BOLI EREDITARE ALE ABSORBȚIEI ELECTROLIȚILOR

Alcaloza congenitală cu diaree sau clorhidroreea congenitală se caracterizează prin alcaloză metabolică și eliminare excesivă de clor în fecale și absența lui aproape completă din urină. Defectul de bază implică mecanismul schimbului dintre clor și bicarbonat în intestin.

Defectele ereditare ale absorbției de calciu și fosfor au fost descrise în rahitismul ereditar.

6. DEFECTE EREDITARE ALE ABSORBȚIEI DE VITAMINĂ B₁₂

Anemia megaloblastică din copilărie poate avea două cauze ereditare: defectul congenital de factor intrinsec care produce o anemie megaloblastică și apare de obicei înaintea vârstei de 2 ani, fără aclorhidrie și atrofia mucoasei gastrice; defectul de transport al vitaminei B₁₂ prin mucoasa ileonului, care se însoțește de proteinurie a cărei cauză nu se cunoaște încă.

La capitolul tulburărilor ereditare ale absorbției intestinale trebuie menționată și *steatoreea idiopatică sau enteropatia glutenică*. Cele două tablouri,

celiachia copiilor și sprue netropical al adultului sînt considerate variante ale aceleiași stări patologice. Concentrația familială a bolii este atît de mare (la părinți și în fraterii), încît este imposibil să nu fie implicată în patogeneză și componenta ereditară. Substratul eredității nu este încă suficient elucidat. Defectul cel mai important este carența unei peptidaze din mucoasa intestinală (L-glutaminilpeptidaza), astfel că peptidele glutenului nu sînt complet scindate. Glutamina, constituent al gliadinei glutenice, ar exercita un efect toxic direct asupra epiteliului, ducînd la atrofia mucoasei. Se discută de unii autori (19) că acesta nu este singurul defect și că ar fi vorba de un proces multifactorial, cuprinzînd efectul mai multor gene în interacțiune cu factorii de mediu. Substratul morfologic este atrofia mucoasei enteronului proximal cu ștergerea vilozităților în grad maxim la nivelul duodenului și jejunului. Malabsorbția interesează substanțele care se absorb la acest nivel, în primul rînd lipidele, dar și altele, ca glucoza, fierul, acidul folic, vitamina D etc.

RECTOCOLITA HEMORAGICĂ

Boală nu prea frecventă la noi, dar cu morbiditate în creștere în toate zonele geografice, face parte din categoria bolilor digestive cu etiopatogeneză încă neelucidată. Se discută în special 3 categorii de factori: factorul familial, cel imunologic și cel de mediu. Incidența familială crescută a bolii este un fapt dovedit de numeroase statistici. Cercetările imunologice, clinice și experimentale pledează pentru capacitatea colonului de a participa în reacțiile imunologice. Factorii de mediu, mai ales infecțioși și alimentari, intervin și ei în lanțul patogenetic al bolii. Se poate afirma deci că rectocolita hemoragiei face parte din bolile cu cauzalitate plurifactorială și că există o predispoziție familială poligenică, care ar putea consta dintr-o tulburare a homeostazei imunologice sau dintr-o vulnerabilitate celulară crescută, determinată genetic, care modifică reactivitatea față de factorii de mediu. Studiile în curs vor aduce desigur mai multă claritate în acest domeniu.

POLIPOZA INTESTINALĂ

Acest capitol cuprinde mai multe forme clinice, a căror etiopatogeneză nu este încă suficient lămurită. Caracterul ereditar este unanim recunoscut pentru următoarele trei variante: polipoza familială a colonului, sindromul Gardner și sindromul Peutz-Jeghers (19). Există și forme ale polipozei gastro-intestinale, în care nu s-a evidențiat tendința familială:

— *Polipoza familială a colonului* este probabil varianta cea mai frecventă a bolii. În formele tipice, întregul colon este tapetat cu polipi al căror aspect histologic este de adenom benign. Analiza arborilor genealogici arată că boala se transmite autozomal dominant și că expresivitatea genei poate fi influențată de factorii de mediu. Un fapt care trebuie subliniat este malignizarea frecventă și la o vîrstă tînră a polipilor colonului.

— *Sindromul Gardner* constă din asocierea unei polipoze multiple a intestinului subțire și gros cu tumori ale oaselor și țesuturilor moi. Acestea

din urmă sînt în predominanță chisturi dermoide, sebacee și fibroame, lipoame sau chiar sarcoame. Există și în acest sindrom o tendință marcată la degenerescența malignă a polipilor. Manifestările fenotipice sînt produse de o genă unică, cu efect pleiotropic, care se transmite autozomal dominant.

— *Sindromul Peutz-Jeghers* se caracterizează printr-o polipoză intestinală generalizată și prin pete pigmentare cutanate și mucoase. Polipii sînt multipli și se localizează mai frecvent în intestinul subțire. Petele melanice apar pe buze, mucoasa obrazilor, gingiilor, pe degete, palme, pleoape. Polipii nu sînt adenoame, ci malformații congenitale sau hamartoame și numai foarte rar se malignizează. Studiul pedigriurilor demonstrează că boala se datorește unei gene unice, cu efect pleiotropic. Expresia genei este variabilă și nu toți membrii unei familii dezvoltă tabloul complet, unii au numai polipoză sau numai pete melanice.

Există și alte variante rare, probabil ereditare: polipoza colonului cu tumori ale sistemului nervos, polipoza multiplă a colonului și stomacului, a colonului cu polip duodenal etc.

C. PATOLOGIA GASTRODUODENALĂ

Din acest capitol ne vom mărgini să menționăm doar **ulcerul duodenal**. Mecanismul plurifactorial al patogenezei acestei boli în care participă atât predispoziția ereditară, cât și factorii de mediu a fost mereu subliniată în lucrări anterior publicate (13, 19). Dintre toți factorii patogenetici care intervin în determinismul bolii ulceroase, factorul genetic pare cel mai important pentru că este singurul constant, singurul necesar (12). Cercetările întreprinse în ultimii ani de colectivul Clinicii a III-a medicale de la Cluj au permis următoarele contribuții la studiul patogenezei ulcerului duodenal:

— constatarea unei incidențe familiale crescute a ulcerului duodenal și la populația zonei noastre geografice;

— prezența aceluiași raport de 4/1 între bărbați și femei;

— frecvența mai mare a complicațiilor în ulcerele familiale;

— asocierea cu grupa sanguină O și mai ales cu starea de nonsecreție salivară a muco-substanțelor de grupă;

— capacitatea clorhidrosecretorie crescută nu numai la ulceroșii duodenali, dar și la membrii de familie aparent sănătoși provenind din familii de ulceroși, precum și asocierea ei cu grupa O și nonsecreția sugerînd că această capacitate poate fi inclusă în fondul ereditar.

Cu toată bogăția de fapte acumulate, cunoștințele reale despre modul intim prin care se exercită influențele ereditare în ulcerul duodenal sînt încă modeste. Nu ar fi exclus ca și alte verigi cunoscute ale lanțului patogenetic să aibă o bază genetică. Ar fi posibil ca în urma unei malformații sau a hiperfuncției ereditare, calea neurovagală să reprezinte un stimul permanent crescut pentru masa celulelor acidosecretore gastrice. Ar putea fi luate în considerație erori „înnăscute” în legătură cu metabolismul acetilcolinei, gastrinei, histaminei sau cu transportul ionilor prin mucoasa gastrică. Complexitatea problemei, ca și lipsa unei metodologii face ca studiul factorilor genetici în boala ulceroasă să pară încă dificil și anevoios.

PROBLEME DE TERAPIE ÎN BOLILE EREDITARE DIGESTIVE

Terapia este încă partea cea mai puțin satisfăcătoare a geneticei medicale, totuși, nu sîntem atît de dezarmați pe cît s-ar părea și se speră că progresele rapide din domeniul cunoașterii mecanismelor de producere a bolilor vor fi de folos și în ameliorarea tratamentului. Menționăm cîteva forme de tratament în bolile genetice digestive:

— **Dieta de excludere.** Scoaterea la timp din alimentație a substanțelor care nu pot fi metabolizate poate preveni tulburările ireversibile. Ulterior, organismul „învață” să tolereze substanțele respective fie prin maturare enzimatică, fie prin inducerea altor căi metabolice, fie datorită faptului că de la o vreme țesuturile încetează să mai fie sensibile. Este cazul galactozemiei, deficitului de dizaharidaze, enteropatiei glutenice etc.

— **Evitarea unor medicamente.** Barbituricele precipită crizele de porfirie la persoanele cu acest defect genetic, de aceea agentul declanșator trebuie evitat.

— **Eliminarea din organism a substanțelor acumulate în urma erorii de metabolizare.** În degenerescența hepatolenticulară, cuprul poate fi îndepărtat prin agenți chelatori care-l fixează și-l elimină prin urină; de asemenea în hemocromatoză, excesul de fier se poate elimina prin chelatori. Tratamentul prin venepuncții repetate în hemocromatoză este o modalitate de a imita natura care face ca femeile să prezinte mai rar boala, ele eliminînd fierul cu ocazia sarcinii și a ciclului.

— **Tratamentul chirurgical** îndepărtează organul afectat, acolo unde este posibil: eliminarea polipilor intestinali (evitînd malignizarea), intervențiile chirurgicale pentru ulcer, sindromul Zollinger-Ellison etc.

Lista bolilor ereditare ale tractului gastrointestinal și a problemelor pe care ele le ridică este departe de a fi epuizată, dar nu acesta a fost scopul prezentei lucrări. Am intenționat doar să subliniem contribuția pe care o aduce genetica, prin metodele și căile ei de abordare, la rezolvarea numeroaselor necunoscute care persistă încă în cunoașterea mecanismelor de producere a unor boli ale tubului digestiv.

BIBLIOGRAFIE

1. Arias I. M. — *Amer. J. Med.*, 1961, 31, 510.
2. Arias I. M. — The transport of bilirubin in the liver, în *Progress in liver diseases*, vol. 1, edit. H. Poper și F. Schaffner, Ed. Heinemann, Londra, 1961.
3. Badual J., Lestrade H. — *Path. Biol.*, 1968, 16, 7—8, 457.
4. Bearn A. G. — (cit. R. B. McConnell), *The genetics of gastrointestinal disorders*, Oxford Univ. Press, Londra, 1966, p. 206.
5. Booth C. C. — Physiopathology of intestinal malabsorption; în *Recent advances in gastroenterology*, edit. J. Badnoch și B. N. Brooke, Ed. Churchill, Londra, 1965.
6. Clarke C. A., Price Evans D. A., Harris R., McConnell R. B., Woodrow J. C. — *Quart. J. Med.*, 1968, 37, 145, 52.
7. Crosby W. H. — *Blood*, 1963, 22, 441.
8. Dahlquist A. — *Enzyme deficiency in the small intestine*; în *Recent advances in gastroenterology*, edit. J. Badnoch și B. N. Brooke, Ed. Churchill, Londra, 1965

9. Davis P. S., Luke C. G., Deller D. J. — *Lancet*, 1966, II, 1431.
10. Dean G., Barnes H. D. — *Brit. med. J.*, 1955, 2, 89.
11. Debré R. — (cit. R. B. McConnell), *The genetics of gastrointestinal disorders*, Oxford Univ. Press, Londra, 1966, 203.
12. Dubarry J. J., Pisot G., Duhamel J. — *Biol. Med.*, 1960, 2, 178.
13. Fodor O., Popescu S., Urcan Stela — *Boala ulceroasă, fiziopatologie și patogeneza*, Ed. Acad. R.S.R., București, 1968.
14. Frezal J. — *Abbotempo*, 1966, 1, 22.
15. Frisch A. V. — (cit. J. E. Berk și R. J. Priest), *Gastroenterology*, vol. III, edit. H. L. Bockus, Ed. Saunders, Philadelphia, 1966.
16. Johnson G. B., Fery W. G. — *J. Amer. med. Ass.*, 1962, 179, 747.
17. Macdonald R. A. — *Arch. intern. Med.*, 1963, 112, 184.
18. Manson J. S. — (cit. R. B. McConnell), *The genetics of gastrointestinal disorders*, Oxford Univ. Press, Londra, 1966, 218.
19. McConnell R. B. — *The genetics of gastro-intestinal disorders*, Oxford, Univ. Press, Londra, 1966.
20. McKusick V. A. — *Amer. J. Med.*, 1963, 34, 5.
21. Milne M. D. — *Brit. med. Bull.*, 1967, 23, 3, 279.
22. Morgan O. S., Weir D. G., Gatenby P. B. B., Scott J. M. — *Lancet*, 1969, I, 861.
23. Pirart J., Gatez P. — *Sem. Hôp. Paris*, 1958, 37, 1044.
24. Powell L. W. — *Quart. J. Med.*, 1965, 34, 427.
25. Pollycove M. — *Essentialia*, 1966, 2.
26. Scheuer P. J., Williams — *Genetic disorders of the liver; in Progress in liver diseases*, vol. II, edit. H. Popper și F. Schaffner, Ed. M. B. Heinemann, Londra, 1965.
27. Schmidt R. — *The Porphyrrias, The Metabolic basis of inherited diseases*, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden și D. S. Fredrickson, Ed. Mc Graw Hill, New York, 1966.
28. Senior B., Loridan L. — *New Engl. J. Med.*, 1968, 279, 958.
29. Sheldon H. J. — (cit. McConnell) (19).
30. Sherlock S. — *Diseases of the liver*, Ed. F. A. Davis, Philadelphia, 1968.
31. Smithies O. — *Biochem. J.*, 1955, 61, 629.
32. Sternlieb I., Morell A. G., Bauer C. D., Combes B., de Bobes-Sternberg S., Scheinberg I. H. — *J. clin. Invest.*, 1961, 40, 707.
33. Sternlieb I. — *Gastroenterology*, 1968, 55, 3, 354.
34. Truelove S. C., Reynell P. C. — *Diseases of the digestive system*, Ed. Blanckwell, Oxford, 1965.
35. Waldenström J., Haeger-Aronsen B. — *The Porphyrrias, a genetic problem*, *Progress in Medical Genetics*, vol. 5, edit. G. Steiber și A. G. Bearn, Ed. Grune și Stratton, New York, 1967.
36. Walshe J. M. — *Wilson's Disease*, edit. D. Bergsma, J. H. Scheinberg și Sternlieb I., National Foundation-March of Dimes, New York, 1968.
37. With T. K. — *Acta med. scand.*, 1969, 186, 117.
38. Wolf R. L., Pizette M., Richman A., Dreiling D., Jacobs W. Fernandez O., Popper H. — *Amer. J. Med.*, 1960, 28, 32.

ASPECTE GENETICE ÎN OFTALMOLOGIE

I. Păcurariu, Rodica Pop

Poate mai mult decît în alte ramuri ale specialităților medicale, aspectul genetic al afecțiunilor oculare este cunoscut de foarte mult timp, iar studiile întreprinse în acest domeniu sînt deosebit de numeroase. În ultimul deceniu, datorită cuceririlor din biochimia celulară și a studiilor bazate pe modificările structurale ale cromozomilor, cercetările clinice de genetică oculară au luat un avînt deosebit.

Cauzele care fac ca cercetările în domeniul genetice oculare să fie foarte numeroase și dintre cele mai avansate sînt, după Duke-Elder, următoarele:

1. Poziția anatomică a globului ocular, accesibilă direct celor mai moderne mijloace de investigație clinică, a căror precizie o egalează — în multe cazuri — pe aceea a cercetărilor de laborator (biomicroscopie, oftalmoscopie etc.).
2. Evidența unora dintre anomaliile oculare, care la alte organe nu pot fi descoperite decît după investigații laborioase.
3. Caracterul adesea extrem de simplu al naturii genetice a bolii.
4. Interesul susținut al unor oftalmologi de vază care s-au dedicat, în mod special, studiului acestor categorii de afecțiuni (Nettelship, Bell, Franceschetti, François etc.).

Toate acestea au contribuit la apariția, în frecvență sporită a unor importante studii monografice dedicate acestei probleme.

În practica de toate zilele este adesea deosebit de greu să stabilim natura exactă a unei boli. De aceea considerăm împreună cu Sorsby — că o afecțiune oculară o putem considera genetic determinată dacă în etiologia ei pre-dispoziția genetică predomină față de factorii de mediu. Numai în foarte puține cazuri de anomalii congenitale s-au putut pune în evidență erori înnăscute ale metabolismului. În cea mai mare parte a cazurilor, acestea lipsesc. De asemenea, modificările numerice și structurale ale cromozomilor s-au putut evidenția într-un număr foarte limitat de boli rare, foarte probabil din

cauză că marea majoritate a acestor anomalii cromozomiale nu sînt compatibile cu viața.

Datorită acestor motive, orice clasificare a bolilor oculare genetic determinate trebuie să fie ecletică: biochimică sau metabolică, în puținele cazuri în care acest lucru este posibil, anatomică sau pur descriptivă în marea majoritate a cazurilor.

În încercarea noastră de a sistematiza expunerea, în scopul formării unei idei cît mai clare și cît mai apropiate de realitate, vom studia afecțiunile oculare în următoarea succesiune:

I. Boli metabolice cu manifestări oculare.

II. Boli sistemice cu manifestări oculare.

III. Principalele sindroame cu manifestări oculare.

IV. Boli oculare propriu-zise, genetic determinate, care nu se încadrează în grupele de mai sus.

V. Manifestări oculare la heterozigoți.

După cum se vede, clasificarea este artificială, iar grupele de boli nu sînt suficient de bine conturate, aceeași afecțiune putînd fi foarte bine încadrată în una sau alta din primele 3 categorii de afecțiuni, cu cointeresarea globului ocular.

I. BOLI METABOLICE CU MANIFESTĂRI OCULARE

Vom menționa numai pe acelea în care manifestările oculare sînt mai evidente.

A. TULBURĂRILE METABOLISMULUI PROTIDIC

Dintre tulburările *metabolismului protidic* sînt de semnalat:

1. Alcaptonuria sau *ochronoza*, care se transmite după modul recesiv sau dominant. Din punctul de vedere al manifestărilor clinice generale, afecțiunea este recunoscută după colorația brună închisă pe care o primește urina expusă la aer și după colorația albastră-brună pe care o poate avea cartilajul urechilor sau nasului.

Alcaptonuria este datorită tulburării metabolismului fenilalaninei și tirozinei, transformarea acestor doi acizi aminați terminîndu-se la stadiul de acid homogentizinic sau alcapton. Din punct de vedere ocular se manifestă prin apariția unor pete albastre pe conjunctivă și sclerotice.

2. Albinismul, datorit lipsei congenitale a tirozinazei sau dopaoxidazei are mai multe forme:

a) Albinismul universal complet; se transmite după modul autozomal-recesiv în marea majoritate a cazurilor.

b) Albinismul universal incomplet sau albinoidismul; se transmite după modul autozomal-recesiv sau dominant, regulat sau neregulat.

c) Albinismul izolat al ochiului se transmite după modul autozomal recesiv legat de sex.

3. Cistinuria și cistinoza (boala Lignac).

Cistinoza este datorită de asemenea tulburării metabolismului acizilor ami-nați și, în afară de leziunile oculare caracteristice, se manifestă prin:

- tulburări de creștere cu nanism;
- hipofosfatemie cu rahitism și osteoporoză;
- nefroză cronică interstițială, dar mai ales glomerulară;
- anemie hipocromă și hipokaliemie, cu eliminare exagerată de potasiu în urină;
- hiperaminoacidurie;
- teaurizarea cistinei, mai ales în ficat (hepatomegalie), splină (spleno-megalie) și în ganglioni (micropoliadenopatie). Din punct de vedere ocular se manifestă prin depozite de cristale de cistină în corneea. Transmiterea ereditară este de tip recesiv legată de sex.

B. TULBURĂRILE METABOLISMULUI GLUCIDIC

Tulburările *metabolismului glucidic*, cele mai importante, cu manifestări oculare sînt:

1. Galactozemia și galactozuria. Afecțiunea este determinată de imposibilitatea convertirii galactozei în glicogen, probabil datorită unei disfuncții enzimice hepatice. Ca manifestări clinice generale se caracterizează prin pierdere în greutate și oprire în creștere, hepatomegalie (infiltrație grăsoasă și ciroză secundară), splenomegalie, un prag ridicat de galactoză în sînge și urină și albuminurie. La nivelul ochilor se manifestă prin cataractă cu caracter reversibil, datorită acțiunii toxice a galactozei asupra epiteliului cristalinian. Se transmite după modul autozomal recesiv.

2. Diabetul, cu manifestările sale oculare: cataracta și retinopatia; se transmite după modul autozomal, recesiv, sau dominant.

C. TULBURĂRILE METABOLISMULUI LIPIDIC

Tulburările *metabolismului lipidic* au ca manifestări clinice mai importante:

1. Idioția amaurotică familială.

a) Forma Tay-Sachs se manifestă prin: tulburări mintale, intelectuale și psihomotorii, prin tulburări neurologice (crize epileptiforme, paralizii musculare de tip spastic sau flasc) și prin semne oculare patognomonice: la nivelul regiunii maculare se observă un focar gri-alb, de mărimea unui diametru papilar, în centru cu o pată roșie ca cireașa și atrofie optică progresivă cu pierderea vederii. Se transmite după modul recesiv simplu, cu penetranță completă, sau după modul dominant neregulat sau intermediar.

b) Forma Vogt-Spielmeyer apare la adolescență și se manifestă prin aceleași simptome generale. Leziunile oculare sînt mai puțin caracteristice. Forma Vogt-Spielmeyer (juvenilă): transmitere autozomal-recesivă.

c) Formele congenitale, infantile tardive și presenile se transmit toate după modul recesiv simplu.

2. Boala Niemann-Pick și Gaucher au mai puțină importanță din punct de vedere oftalmologic.

3. Xantomatozele

a) Cele hipercolesterolemice se manifestă la ochi, prin xantelasmă și gerontoxon și se transmit dominant.

b) Cele normocolesterolemice se pot manifesta de asemenea prin xantelasmă și gerontoxon, cu transmitere dominantă (boala Hand-Schüller-Christian).

D. TULBURĂRILE METABOLICE ALE PORFIRINELOR

Tulburările *metabolice ale porfirinelor* (porfiriile și porfirinuriile) se manifestă la ochi, prin xeroftalmie, keratomalacie, nevrite optice. Cele acute se transmit după modul dominant, iar cele congenitale, cronice, după modul recesiv.

II. BOLI SISTEMICE CU MANIFESTĂRI OCULARE

A. BOLILE SISTEMULUI NERVOS CENTRAL

Au un caracter ereditar și sînt deosebit de numeroase și variete, aproape toate avînd și manifestări oculare mai mult sau mai puțin importante.

1. Eredoataxiile (boala Friedreich și boala Pierre Marie) se însoțesc de paralizii oculare, tulburări pupilare, nistagmus, nevrite rétrobulbare, atrofii optice, degenerescențe tapetoretiniene, corioretinite, cataracte congenitale. Ereditatea este recesivă simplă sau dominantă și numai în mod excepțional recesivă legată de sex.

2. Leuconevraxitele (scleroza în plăci și neuromielita optică) se însoțesc de regulă de fenomene nevritice: rétrobulbare sau papilite și de paralizii oculomotorii.

3. Degenerescența hepato-lenticulară (boala Wilson) se caracterizează, printre altele, prin prezența inelului Kayser-Fleischer în corneea. Boala are un caracter recesiv simplu.

4. Siringomielia (status disraphicus) se caracterizează prin prezența sindromului Claude Bernard-Horner și se transmite dominant.

B. BOLILE SISTEMULUI OSOS

Sînt fie generalizate, fie localizate la craniu și masivul facial sau la coloana vertebrală.

1. Anomaliile generalizate (sistemizate) se manifestă ocular, în marea lor majoritate, prin atrofii ale nervului optic:

- a) Osteopetroza Alberts-Schönberg; se transmite recesiv simplu.
- b) Osteita deformantă sau boala Paget; se transmite dominant autozomal, incomplet.
- c) Disostoza cleidocraniană; se transmite dominant, avînd o penetranță ridicată.

2. Anomaliile localizate:

a) Disostozele craniofaciale se manifestă ocular prin: atrofii optice, exoftalmie, oftalmoplegie, strabism divergent etc.

- oxicefalia; se transmite dominant;
- disostoza craniofacială sau boala Crouzon; transmitere dominantă;
- distoza mandibulofacială (Franceschetti); se transmite dominant neregulat;

— hipertelorismul: transmitere dominantă sau recesivă.

b) Afecțiunile rahidiene:

— Spondilita rizomelică se caracterizează din punct de vedere ocular prin iridociclite plastice recidivante. Se transmite dominant simplu.

C. BOLILE CUTANATE

Se însoțesc adesea de manifestări la nivelul conjunctivei, corneei, cristalinului și retinei.

1. Epidermoliza buloasă, care se însoțește de leziunile similare celor cutanate la nivelul pleoapelor, conjunctivei și corneei, are o ereditate autozomal dominantă, regulată.

2. Incontinentia pigmenti (Boala Bloch-Sulzberger) se manifestă ocular prin pseudoglicom, cataractă congenitală și strabism, iar cutanat prin pigmentație cenușie-brună, dispusă în formă de striuri și în unele cazuri alopecie. Prezintă o ereditate dominantă.

3. Sindromul Rothmund și sindromul Werner se caracterizează din punct de vedere oftalmologic prin cataractă zonulară sau subcapsulară anterioară și posterioară (dermatogenă). Ereditatea este recesivă simplă sau dominantă neregulat.

D. BOLILE SÎNGELUI

Se manifestă din punct de vedere oftalmologic prin hemoragii și exsudate retiniene, precum și prin modificări vasculare retiniene.

1. Hemofilia, în mod obișnuit, nu se însoțește de manifestări oculare, dar în 20% din cazuri, ea se poate asocia cu discromatopsie. Se transmite după modul recesiv legat de sex.

2. Anemia cu celule falciforme (siclemia, falcemia, drepanocitoza): se manifestă cu hemoragii retiniene. Ereditatea este dominantă sau recesivă incompletă, cu manifestări clinice la heterozigoți.

3. Icterul hemolitic congenital prezintă, din punct de vedere ocular, deschideri palpebrale mongoloide, microftalmie, heterocromie a irisului, miopie, discromatopsie și cataractă congenitală. Se transmite dominant cu o penetranță neregulată.

4. Leucozele se manifestă la nivelul ochiului prin retinopatii caracteristice și inflamații iridociliare. Ereditatea este discutată, factorul genetic nefiind demonstrat. Se vorbește mai mult de o predispoziție ereditară.

E. BOLILE ENDOCRINE

Au numeroase manifestări oculare. Ne vom limita însă la două:

1. **Boala Basedow** în care simptomul ocular dominant este exoftalmia. Ereditatea acestei boli nu este încă suficient de clară. Se pare că se transmite după modul recesiv, dar există numeroase cazuri dominante cu penetranță și expresivitate variabile.

2. **Hipoparatiroidia**, al cărei simptom ocular este cataracta tetanică, are de asemenea o ereditate incomplet elucidată. Se pare că se transmite după modul dominant.

III. SINDROAME CU MANIFESTĂRI OCULARE

A. SINDROAME CU PREDOMINANȚĂ MEZODERMICĂ

1. **Sindromul Marfan**, în care, alături de ectopia bilaterală a cristalinelor, se întâlnesc o multitudine de alte anomalii oculare, se transmite după modul dominant. În afara manifestărilor oculare, sindromul este caracterizat și prin:

- oase lungi și subțiri, îndeosebi oasele degetelor (arahnodactilie);
- hipoplazie cu hiperlaxitate sau contractură musculară;
- absența țesutului grăos subcutanat;
- tulburări trofice: deformare în pîlnic a toracelui, boltă ogivală, cifo-scolioză, *scapulae alatae*, picioare plate;
- leziuni cardiace (persistența găurii ovale);
- malformații auriculare;
- habitus astenic, infantilism.

2. **Sindromul Marfan**, caracterizat, din punct de vedere ocular prin sferofakie și glaucom secundar; se transmite după modul dominant sau recesiv. Alături de leziunile oculare constatăm brahimorfie, brahicefalie, talie pitică, membre scurte, brahidactilie, mâini și picioare late, limitarea mobilității articulațiilor, musculatură și țesut grăos subcutanat bine dezvoltate.

3. Sindromul scleroticelor albastre (Eddowes, van der Hoeve, Klejn) se caracterizează printr-o triadă simptomatică:

- sclerotice albastre, datorită transparenței și subțierii membranei;
- fragilitate osoasă, care favorizează producerea fracturilor spontane multiple și hiperlaxitate articulară — cauza luxațiilor sau subluxațiilor mai ales la umăr și la articulația coxo-femurală.

— surditate datorită fie otosclerozei, fie unei laxități în articulațiile oscioarelor. Se transmite după modul dominant.

4. Sindromul Groenblad-Strandberg-Touraine, elastorexia sistematizată sau sindromul strilor angioide retiniene; se transmite după modul dominant sau recesiv simplu.

În afara leziunilor oculare se constată pseudo-xantomul elastic cutanat și leziuni cardiovasculare: aortită, miocardită, ateroscleroză precoce, hipertensiune arterială juvenilă, arterite viscerale, cerebrale sau periferice.

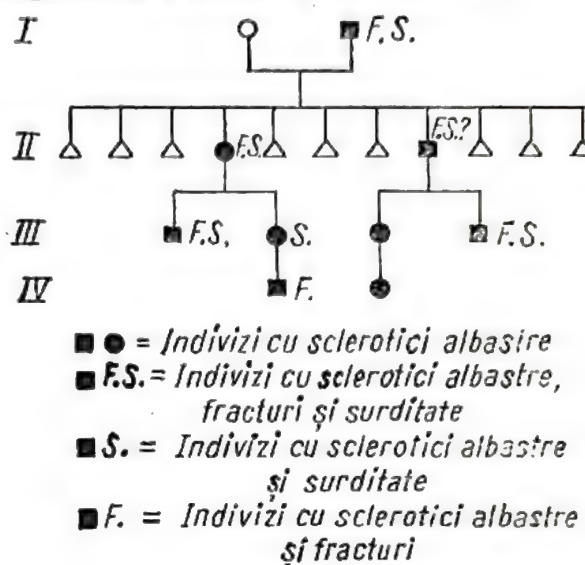


Fig. XIV, 1. Sindromul scleroticelor albastre (Păcurariu și Florescu, Cluj med., 1948)

B. SINDROAME PREDOMINANT ECTODERMICE

— Sindromul Gougerot-Sjögren se caracterizează, ocular, prin „keratoconjunctivitis sicca”, cu fenomene de keratină filamentosă și diminuarea secreției lacrimale. Ereditatea incomplet elucidată se pare să fie recesivă, legată de sexul feminin.

C. SINDROAME PREDOMINANT NEUROECTODERMICE

1. Facomatozele

- neurofibromatoza Recklinghausen; se transmite după modul dominant;
- scleroza tuberoasă Bourneville; transmitere dominantă;
- angiomatoza retinocerebeloasă sau boala von Hippel-Lindau; se transmite dominant;
- angiomatoza neuro-oculo-cutanată sau boala Sturge-Weber-Krabbe; are de asemenea o transmitere ereditară dominantă.

2. Sindromul Laurence-Moon-Bardet-Biedl: se transmite după modul recesiv.

D. SINDROAME DIN BOLILE CROMOZOMIALE

Studiul cromozomilor în sindroamele malformative datează din anul 1959, când Lejeune, Turpin și Gauthier au descris prima anomalie cromozomială în mongolism. După convenția din Denver (1960), cromozomii sînt clasificați în 7 grupe (de la A la G), după mărime și poziția centromerului.

Cariotipul patologic se datorește fie modificării numărului de cromozomi, fie modificării structurii acestora.

ABERAȚIILE CROMOZOMIALE NUMERICE CU MANIFESTĂRI OCULARE:

a) Anomaliile gonozomiale sînt mai frecvente, nefiind letale:

1 α) *Sindromul Turner* (cariotip XO, lipsa corpusculilor Barr, ca la bărbat) se manifestă din punct de vedere ocular prin ptoză, nistagmus, strabism, tulburări de refracție, anomalii ale simțului cromatic (ca la bărbați).

β) *Sindromul Klinefelter* (cariotip XXV) nu se însoțește, de regulă, de nici o manifestare oculară.

b) Anomaliile autozomilor: sînt anomalii mai rare, dar cu o frecvență crescută a manifestărilor oculare, care însă nu sînt caracteristice din punct de vedere clinic, diagnosticul fiind posibil numai dacă ținem seama de contextul general clinic al bolnavului:

α) *Sindromul G* (trisomia 21, *mongolismul*, *sindromul Down*), cunoscut — ca tablou clinic — încă din 1866 (Down), a fost prima boală cromozomială

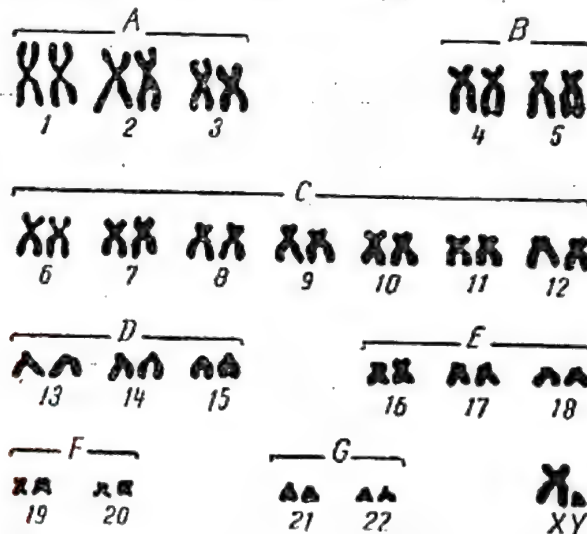


Fig. XIV, 2. Cariotip normal [după Cagianut (4)].

descrisă în 1959 (Lejeune, Gauthier și Turpin). Simptomele oculare cele mai importante sînt: pete portelanoase pe suprafața irisului, strabism, nistagmus, epicant, cataractă, miopia forte, keratocon etc.

β) *Sindromul E* (trisomia 18) a fost recunoscut ca sindrom numai după descoperirea trisomiei 18, în 1960, de către Edwards și colab. și Patau

Simptomele oculare mai frecvente sînt: ptoza, microoftalmia, colobome iriene, atrofii optice, glaucomul congenital, tulburări corneene, fantă palpebrală oblică.

γ) *Sindromul D (trisomia 13—15)*, deși a fost cunoscut, ca manifestare clinică, încă din 1957 (Bartolini) anomaliile cromozomiale au fost descrise abia în 1960 de Patau și colab.

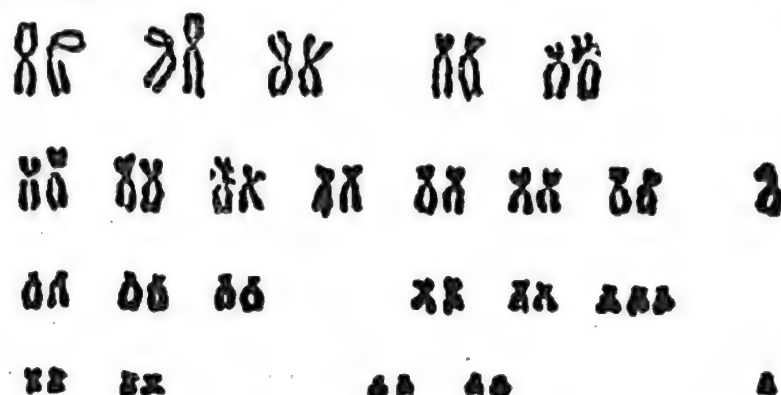


Fig. XIV, 3. Trisomia 18; cariotip [după Cagianut (14)].

Simptomele oculare sînt mai grave ca în toate celelalte boli oculare: anoftalmic, microoftalmic, colobome iriene, tulburări ale corneei, cataracte, membrane retrocristalinene, colobome ale nervului optic etc.

2. ABERAȚIILE DE STRUCTURĂ ALE CROMOZOMILOR CU MANIFESTĂRI OCULARE

a) *Sindromul „tipătului de pisică” („cri du chat”)* se caracterizează prin delațiunea parțială a cromozomului B 5 (E. Lejeun, 1964).

Simptome oculare: hipertelorism, fante palpebrale oblice, epicant.



Fig. XIV, 4. Sindromul oculo-anal; cariotip [după Cagianut (4)]

b) *Sindromul oculo-anal* (se caracterizează prin prezența unui cromozom mic supranumerar, cu centromer submedian) (fig. XIV, 4).

Simptome oculare: hipertelorism, fantă palpebrală antimongoloidă, microoftalmie, colobom irian și coroidian.

IV. BOLI OCULARE PROPRIU-ZISE SAU COMUNE, CU CARACTER EREDITAR

A. ANOMALIILE CONGENITALE

În marea lor majoritate, anomaliile congenitale sînt datorite unor factori externi (peristatici), care prin intermediul mamei pot afecta germenul în diversele sale faze de dezvoltare (gametopatii, embriopatii, fetopatii). Leziunile celulelor germinale parentale pot da naștere unor mutații genice cu caracter transmisibil ereditar.

Între anomaliile congenitale ereditare și cele de natură peristatică (fenocopii) nu există nici o diferență clinică.

În multe cazuri este greu să diferențiem partea de contribuție care revine factorilor ereditari și celor peristatici în anomaliile de natură mixtă, al căror număr este poate mai mare decît al anomaliilor de natură genetică sau peristatică pură. Un factor genetic cu mai mică putere de manifestare poate fi influențat de factorii de mediu în sensul creșterii sau scăderii penetranței și a expresivității sale.

Dintre anomaliile oculare cu caracter genetic 90% se transmit după modul recesiv.

O descriere, chiar foarte rezumativă a acestor anomalii oculare, ar depăși cu mult cadrul acestei lucrări, de aceea ne rezumăm la cele cîteva date de generalități expuse.

B. TULBURĂRILE DE REFRACTIE

Refracția ochiului este rezultatul combinației diferitelor componente optice, cum sînt: curbura corneei, profunzimea camerei anterioare, grosimea cristalinului, curbura acestuia și lungimea axului antero-posterior al ochiului.

Nici una dintre aceste componente nu este o constantă în sensul strict al cuvîntului, fiecare putînd varia în anumite limite, de la un individ la altul. Refracția totală a ochiului este diferită în funcție de combinațiile și interacțiunile diferitelor componente optice variabile. Astfel, de exemplu, starea de ametropie poate fi rezultanta combinației unor valori medii ale tuturor componentelor optice sau a combinației unei refracții corneene mari cu un ax antero-posterior scurt sau invers.

Valorile fiecărei componente optice, privită izolat, se repartizează după principiul curbei binominale Gauss. Valorile refracției totale însă se înscriu într-o curbă simetrică, mai îngustă și mai înaltă decît curba binomială normală. În acest caz există deci un exces pentru valorile normale, adică pentru emetropie, într-o populație dată (fig. XIV, 5).

Componentele optice, cu excepția lungimii axului anteroposterior al globului, nu sînt caracteristice nici pentru starea normală (emetropie), nici pentru diferitele ametropii, care rezultă din combinarea unor valori ce se sumează sau se neutralizează.

Cea mai mare parte a ametropiilor (2/3 din cazuri) este rezultanta combinațiilor diferitelor componente normal-variabile. În aproximativ 1/3 din cazuri (30,20%), ametropia se datorește unei lungimi anormale a axului antero-posterior al globului ocular.

Cu excepția miopiei maligne și a hipermetropiei, foarte putem considera tulburările de refracție ca variante fiziologice ale refracției oculare.

Din punct de vedere genetic, refracția oculară prezintă câteva caracteristici:

— fiecare componentă optică se transmite ereditar independent;

— fiecare se poate transmite după moduri diferite;

— se pare că la determinarea unei singure componente iau parte mai mulți factori genotipici (poligenie);

— factorul genetic este imposibil de studiat, dacă ținem seama numai de refracția totală a ochiului.

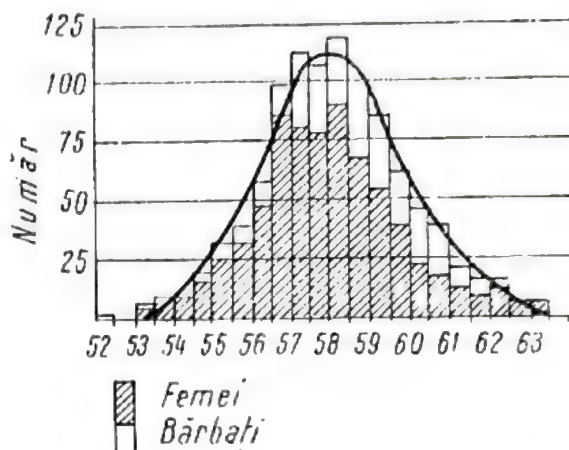


Fig. XIV, 5. Curba frecvenței refracției totale [după François (8)].

1. ASTIGMATISMUL ȘI REFRACȚIA CORNEANĂ

Ne oferă singurele date valabile asupra eredității diferitelor componente optice. La gemenii univitelini, diferența de refracție corneană între cei doi indivizi nu depășește 2 dioptrii, în timp ce la populația normală sau la gemenii bivitelini, această diferență poate să atingă și 10 dioptrii. Transmiterea ereditară a astigmatismului se face nu numai în ceea ce privește gradul acestuia, dar și în privința orientării axului.

Modul de transmitere este cel dominant autozomal, uneori neregulat. Unii au descris și un mod de transmitere recesiv sau legat de sex.

Din cauza identității astigmatismului la mai multe generații succesive, unii au avut ideea utilizării lui ca test în stabilirea paternității.

2. REFRACȚIA TOTALĂ

a) **Anisometropia** (diferența de refracție dintre cei doi ochi ai aceluiași individ); se transmite după modul dominant sau recesiv.

b) **Hipermetropia**: la gemenii univitelini, diferențele sînt neînsemnate. La populația normală și la gemenii bivitelini, diferențele sînt totdeauna mari, discordante. Identitatea hipermetropiei, la gemenii univitelini, persistă toată viața, ceea ce demonstrează că în acest caz factorii de mediu nu influențează evoluția hipermetropiei, fapt care reduce mult valoarea profilaxiei în combaterea acestei ametropii:

α) *Hipermetropia mică și mijlocie* (pînă la +6 dptr) nu este decît o variantă normală a distribuției binomiale, conform curbei Gauss. Ea se transmite după modul dominant.

β) *Hipermetropia mare*, care este mai rară, apare mai ales la consangvini și se transmite deci după modul recesiv, mai rar dominant.

γ) *Miopia*: este ereditară într-o mare proporție a cazurilor. Ea poate fi datorită și unor factori peristatici, cum sînt: prematuritatea, afecțiunile oculare grave ale copilăriei (keratita flictenulară, sclerokeratitele etc.), care predispun la apariția unor miopii axiale. După Weekers și colab. (1956) ar exista o predispoziție genetică pentru miopie, dar dezvoltarea acesteia ar depinde de factori de mediu, în cea mai mare parte, necunoscuți. Miopia congenitală este o afecțiune foarte rară.

α) *Miopia mică și mijlocie* (sub 6 dptr) este o variantă normală a distribuției binomiale. Ea are un caracter ereditar cert, fapt demonstrat de studiul gemenilor univitelinii la care miopia nu variază sub influența factorilor de mediu. După François (1958), așa-zisa miopie școlară nu ar exista.

Miopia mică și mijlocie se transmite ereditar, după modul dominației autozomale sau după modul recesiv simplu. După Wold (1949), modul de transmitere a miopiei se supune următoarelor reguli:

— dacă nici unul din părinți nu prezintă miopie, există totuși posibilitatea ca 35% din descendenți să fie miopi, ceea ce corespunde unei transmiteri recesive;

— dacă unul sau ambii părinți sînt miopi, 49% din descendenți sînt miopi, ceea ce corespunde unei transmiteri cu caracter dominant.

β) *Miopia mare* (peste —6 dptr) se transmite după modul dominant autozomal sau recesiv simplu.

Copiii născuți din părinți suferinzi de miopie forte în imensa majoritate a cazurilor sînt miopi. Există însă și excepții de la această regulă.

C. STRABISMUL

1. **Strabismul convergent** se transmite după modul dominant simplu și dominant neregulat sau recesiv simplu, dar nici o dată legat de sex. (fig. XIV, 6).

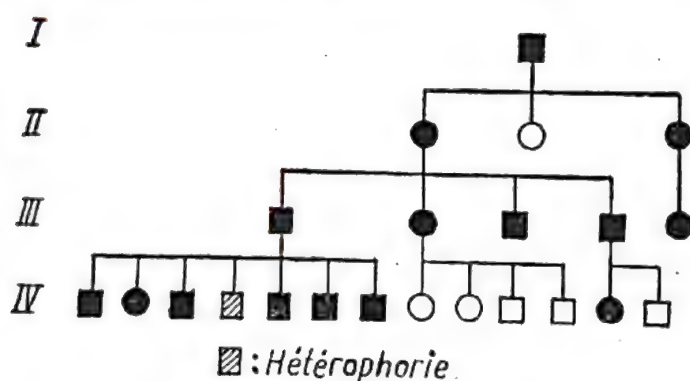


Fig. XIV, 6. Strabism convergent concomitent [după François (8)].

După Weekers și colab. (1956) nu strabismul ca atare ar fi ereditar, ci tulburarea de refracție (în special hipermetropia), strabismul nefiind decît o consecință a acesteia. Ambliopia strabică și corespondența retiniană nu au caracter ereditar, ele fiind fenomene de adaptare la noile condiții anormale.

În general, penetranța genei este slabă și expresivitatea

variabilă, mergînd de la o simplă heteroforie și slăbirea fuziunii la strabismul manifest intermitent sau permanent.

2. **Strabismul divergent** se transmite ereditar, independent de tulburarea de refracție, care poate fi miopia (60% din cazuri) sau hipermetropia (40%). Ereditatea este de tip recesiv, di- sau poligenă, sau dominantă, neregulată, prin lipsă de penetranță. În realitate nu strabismul ca atare este ereditar, ci exoforia, pe baza căreia — sub influența unor factori exogeni, neereditari — poate să apară strabismul divergent.

D. CATARACTELE

1. **Cataractele congenitale:** se transmit de obicei după modul dominant. Există însă și excepții, transmiterea putîndu-se face și după modul recesiv-autozomal sau recesiv legat de sex (cataracta zonulară) (fig. XIV, 7):

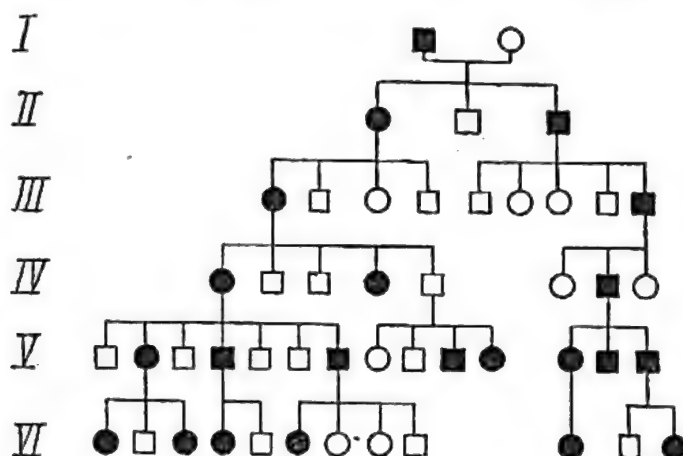


Fig. XIV, 7. Cataractă congenitală totală [după François (8)].

- a) Cataracta totală se transmite mai des dominant, mai rar recesiv;
- b) Cataracta capsulară și capsulolenticulară: transmitere dominantă regulată sau neregulată;

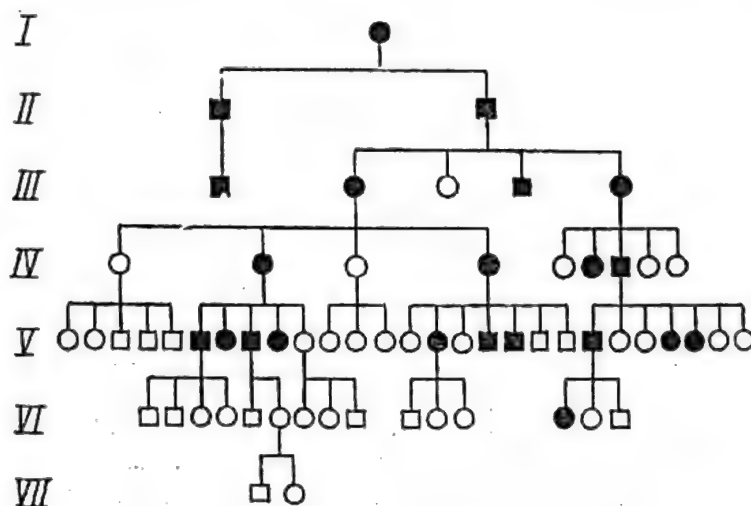


Fig. XIV, 8. Cataractă senilă cu ereditate dominantă [după François (8)].

- c) Cataracta nucleară: transmitere dominantă, mai rar recesivă;
- d) Cataracta zonulară: transmitere dominantă, excepțional recesivă.
2. Cataractele juvenile se transmit după modul dominant.
3. Cataractele presenile și senile: transmitere dominantă (fig. XIV, 8).

E. GLAUCOMUL

1. Glaucomul congenital prezintă o ereditate recesivă monomerică, controlată de sex și cu o penetranță variabilă. Consanguinitatea este frecventă. Boala apare atât familial, cât și în mod sporadic. Uneori, transmiterea îm-

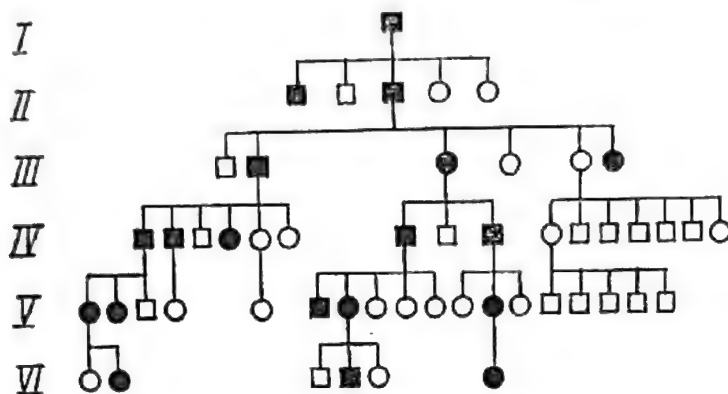


Fig. XIV, 9. Glaucom cronic simplu [după François (8)].

bracă un caracter de pseudodominanță (în caz de căsătorie între un homozigot și un heterozigot). Din punct de vedere genetic nu există nici o legătură între glaucomul primar al adultului și glaucomul congenital.

2. Glaucomul primar se transmite după modul dominant, uneori neregulat, dar și după modul recesiv. Din punct de vedere ereditar nu există nici o legătură între glaucomul simplu (cu unghi deschis) și glaucomul congestiv (cu unghi închis), fiecare formă transmitându-se independent una de alta. În aceeași familie, glaucomul are de obicei aceeași formă de manifestare clinică. S-au descris însă și cazuri de familii în care coexistă ambele forme de glaucom primar. Anticiparea, susținută de unii autori, fără a fi negată total în cazul glaucomului trebuie primită cu multă rezervă (fig. XIV, 9).

F. TULBURĂRILE FUNCȚIONALE ALE RETINEI

În această grupă sînt cuprinse acele tulburări funcționale ale văzului, care nu se însoțesc de nici o manifestare clinică organică, obiectivă.

Vederea normală, la om, necesită 4 opsine diferite: una în bastonașe (scotopsina), care ia parte la formarea rodopsinei, și 3 în conuri (fotopsine), pentru pigmentii vizuali cromatici. Fiecare din acestea este reprezentată de o genă diferită. Două din aceste gene sînt dispuse aproape una lîngă alta pe gonozomul X [opsinele pigmentilor vizuali normali sensibili pentru roșu și ver-

de (R și V)]. Gena responsabilă pentru culoarea albastră (A) este dispusă pe un autozom. Mutațiile acestor gene vor da naștere fie la lipsa de formare a pigmentilor (acromatopsie sau cecitate cromatică), fie la formarea incompletă a pigmentului (discromatopsii sau anomalii ale senzației cromatice).

1. Hemeralopia sau hesperanopia esențială: se transmite după modul dominant (fig. XIV, 10).

În caz că se asociază cu miopia, transmiterea ereditară poate îmbrăca forma recesiv-autozomală sau recesivă legată de sex.

2. Acromatopsia congenitală completă sau totală; transmiterea autozomală recesivă.

3. Acromatopsia congenitală incompletă sau parțială se transmite după modul recesiv legat de sex. Aceasta este valabil însă numai pentru cecitatea la culorile roșie și verde (1%, respectiv 2% din bărbați). Cecitatea pentru albastru-violet este transmisă după modul dominant neregulat autozomal. Ea este însă mult mai rară ca cea pentru roșu și verde (1:20 000, dintre care 40% sînt femei). Aceste persoane au o vedere dicromată și nu tricromată.

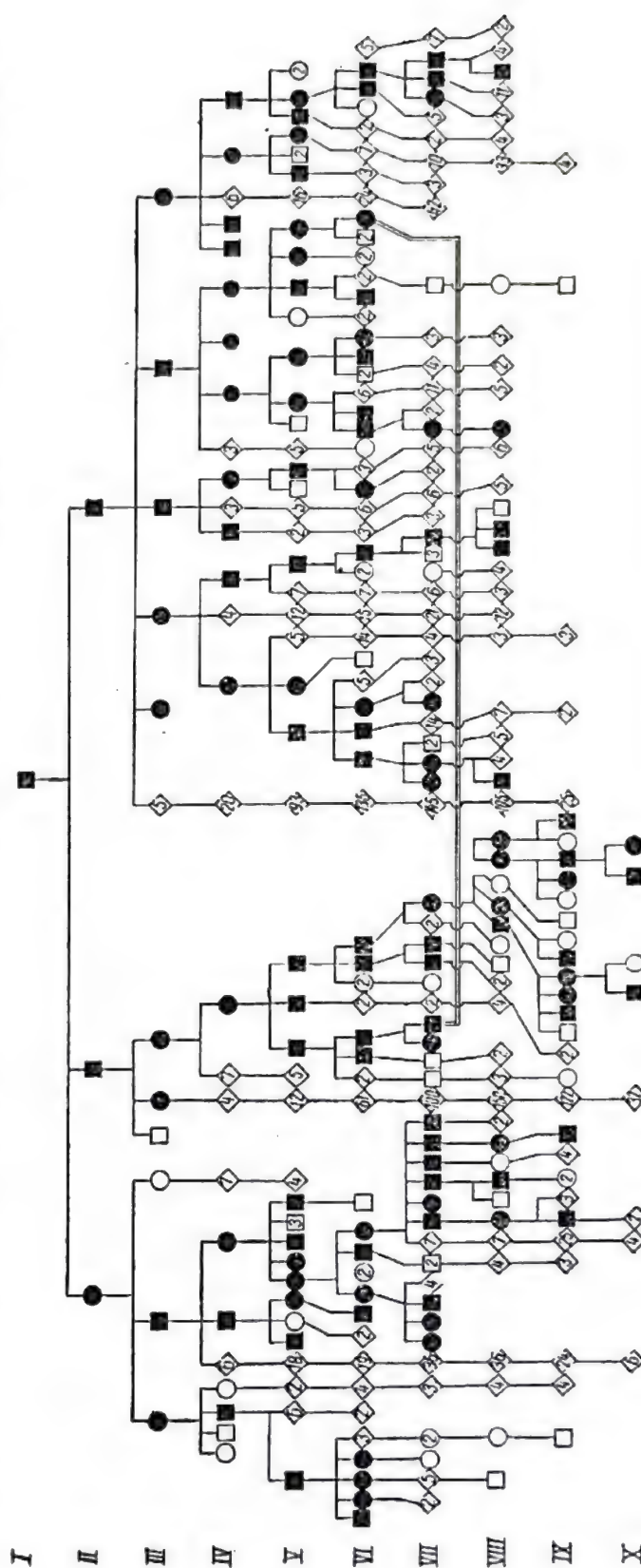


Fig. XIV, 10. Hemeralopie esențială cu ereditate dominantă (familia Nougaret) [după François (8)].

4. Discromatopsiile congenitale sau anomaliile cromatice sînt mult mai răspîndite. Persoanele afectate au o vedere tricromatică, dar asortarea culorilor o fac defectuos. Unul din cele trei mecanisme cromatice este în mod anormal puțin sensibil.

Bărbații sînt discromatopi în proporție de 4—8%, în timp ce femeile numai în proporție de 0,4%. Ele sînt heterozigote într-o proporție de 1/7. În

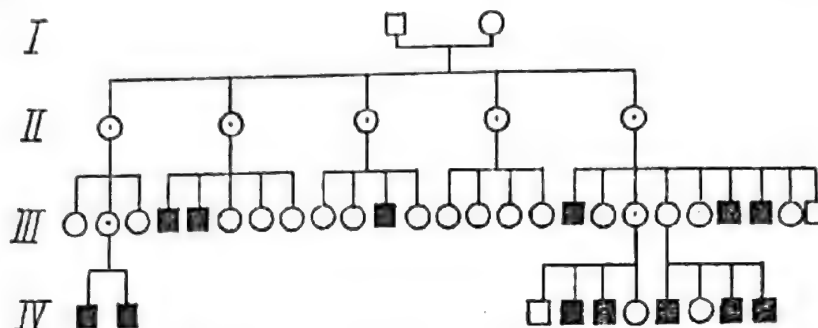


Fig. XIV, 11. Ereditate recesivă legată de sex în discromatopsie [după François (8)].

unele cazuri, la heterozigoți, pot fi puse în evidență — cu ajutorul anomaloscopului sau al fotometrului Pulfrich — anumite tulburări discrete ale simbului cromatic.

Transmiterea ereditară este recesivă legată de sex (fig. XIV, 11):

- tatăl nu transmite niciodată gena patologică fiilor săi;
- ea este transmisă însă tuturor fiicelor.

G. EREDODEGENERESCENTELE TAPETORETINIENE

Prin eredodegenerescență tapeto-retiniană sau abiotrofie a neuro-epiteliului retinian se înțelege o destrucție parțială sau totală a țesutului, normal dezvoltat pînă în acel moment. Aceasta este o consecință a unei fragilități înăscute și ereditare a acestui țesut, care-i limitează în timp viața și-i cauzează o moarte prematură. Nu intră în cadrul eredodegenerescențelor fenocopiile cauzate de factori peristatici sau exogeni (embriopatiile datorite rubeolei etc.), care pot fi diferențiate relativ ușor pe baza examenului ERG (în eredodegenerescențe dispăre unda *b*).

1. DEGENERESCENTELE TAPETORETINIENE PERIFERICE

În această grupă, alături de retinopatia pigmentară tipică, afecțiunea cea mai frecventă dintre abiotrofii, intră toate retinopatiile atipice, cu și fără pigment, localizate și generalizate, retinopatiile albescente, atrofia girată a coroidelor și retinei, coroideremia, sclerozele coroidiene etc.

a) Retinopatia pigmentară generalizată: se transmite după modul recesiv

simplicu (uneori sub forma unei „pseudodominanțe”). Mai rar, dar nu excepțional, transmiterea poate fi dominantă, uneori neregulată. În mod cu totul

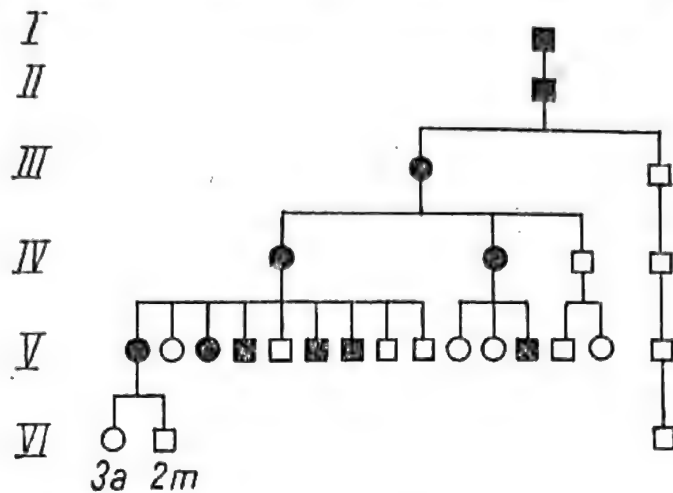


Fig. XIV, 12. Retinopatie pigmentară cu ereditate dominantă [după François (8)].

exceptional se poate observa și o ereditate legată de sex (transmitere recesivă, intermediară sau dominantă, eventual recesivă, incomplet legată de sex) (fig. XIV, 12).

2. DEGENERESCENTELE TAPETO-RETINIENE CENTRALE (MACULARE)

a) Forma congenitală sau infantilă de tip Best se transmite după modul dominant neregulat.

b) **Formele juvenilă** (tip Stargardt), **adultă** (tip Behr) și **senilă** se transmit recesiv simplu în cea mai mare parte a cazurilor, dominant destul de frecvent, iar recesiv legat de sex mai rar.

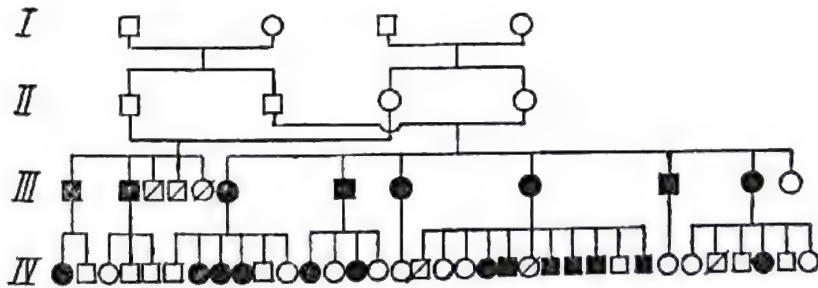


Fig. XIV, 13. *Malattia leventinense*. Ereditate dominantă [după François (8)].

c) **Malattia leventinese**, o afecțiune degenerativă centrală a retinei care se întâlnește în Elveția romandă, în jurul văii Leventina, se transmite după modul dominant (fig. XIV, 13; XIV, 14).

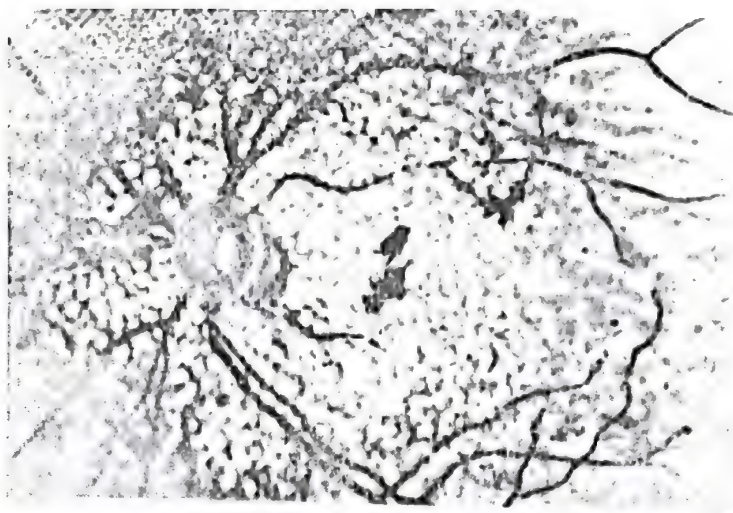


Fig. XIV, 14. Aspectul fundului de ochi în *malattia leventinese*.

H. RETINOBLASTOMUL

Acastă tumoare malignă care interesează copiii de la 1 la 4 ani, mai ales, a cărei frecvență variază de la 1:15 000 la 1:30 000 de nașteri, apare la ambii ochi — simultan sau succesiv — într-o proporție medie de 25% (Vogel, 1965). Caracterul său ereditar și familial este cunoscut încă de mult, dar studii sistematice asupra acestei probleme s-au făcut în ultimele decenii. Astfel, Franceschetti (1930) a stabilit caracterul dominant autozomal al eredității gliomului, cu o penetranță de 80%. Totuși, modul recesiv de transmitere

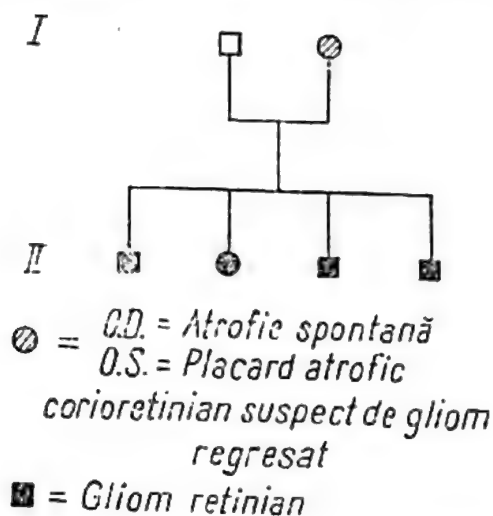


Fig. XIV, 15. Familie cu gliom retinian (Mărgescu și colab., Oftalmologia, 1962).

nu poate fi exclus cu desăvârșire (Schappert-Kimmijser și colab., 1966). Se consideră că toate cazurile bilaterale sînt ereditare, dar boala nu se manifestă la descendenți în unele cazuri, din cauza penetranței incomplete a genei patologice. Explicarea lipsei de apariție a bolii la descendenți ar putea fi dată și de mutații somatice (Schappert-Kimmijser și colab.).

În Clinica de oftalmologie din Cluj au fost observate de Mărgescu și colab. (1962) 4 cazuri de gliom familial, descendenți dintr-o mamă care în copilărie a suferit de gliom retinian regresat spontan (fig. XIV, 15).

V. MANIFESTĂRI OCULARE LA HETEROZIGOȚI (CONDUCTORI DE GENE). SIMPTOME MINIMALE — INDICATORI

Dominanța și recesivitatea nu sînt noțiuni antagoniste ci, mai curînd, limitele extreme ale unei serii continue (Duke-Elder, 1962). Așa se poate explica existența unor gene care nu sînt nici dominante, nici recesive, producînd fenotipuri intermediare la femeile heterozigote, în caz de ereditate intermediară legată de sex. În unele cazuri, acești heterozigoți sînt complet normali, atît organic, cît și funcțional. În alte cazuri însă ei prezintă anumite mici anomalii, pe baza cărora noi putem identifica heterozigoții și lua măsuri eficiente de profilaxie.

A. HETEROZIGOȚII PENTRU O GENĂ INCOMPLET RECESIVĂ

1. EREDITATE INTERMEDIARĂ, LEGATĂ DE SEX

a) **Coroideremia:** este abiotrofie precoce a coroidei care determină atrofia și dispariția progresivă a vaselor coroidiene de la periferie spre centru. Din punct de vedere funcțional apare o hemeralopie evidentă și o strîmtorare progresivă a câmpului vizual periferic, bolnavul ajungînd treptat la cecitate. La bărbat apar tulburări funcționale și organice din tinerețe. La femeia heterozigotă nu apare nici un semn subiectiv, ci numai unele modificări discrete la periferia retinei.

b) **Retinopatia pigmentară legată de sex:** la bărbat apare o retinopatie pigmentară tipică și o scleroză coroidiană progresivă, care duce la cecitate completă. La femeia heterozigotă (conductoare), apare numai un reflex tapeto-retinian macular și perimacular anormal, care se estompează spre periferia câmpului oftalmoscopic. Tulburările funcționale (acuitate, câmp, hemeralopie) sînt absente.

c) **Albinismul ocular legat de sex:** se caracterizează prin localizarea strict oculară, prin scăderea vederii, nistagmus și mișcări ritmice ale capului. La femeia heterozigotă: apare un iris ceva mai diafan, deși în aparență este normal, cu aspectul normal al regiunii maculare, dar cu tulburări de pigmentare la periferia retinei, fără nici o tulburare funcțională.

d) **Tulburările simțului cromatic:** discromatopsiile sînt prezente la bărbați în proporție de 80% (fie tipul protan, fie cel deutan). La femei, în majoritatea cazurilor, aceste tulburări nu sînt evidente, dar pot fi puse în evidență

(fie cu ajutorul anomaloscopului, fie cu cel al fotometrului Pulfrich), unele tulburări sau mai bine zis devieri spre una sau alta din aceste anomalii, fără a depăși însă limitele normalului.

2. EREDITATEA AUTOZOMALĂ RECESIVĂ

Heterozigotul, aparent normal, este mult mai frecvent ca homozigotul, fenotipic manifest. Unii dintre heterozigoți însă nu sînt complet normali din punct de vedere fenotipic. Se constată semne „minore”, fruste sau „intermedii” de boală, care sînt de mare importanță diagnostică și prognostică:

a) **Idiotia amaurotică juvenilă**: la heterozigot se manifestă printr-o creștere a leucocitelor vacuolizate din sînge.

b) **Albinismul**: la heterozigot se prezintă printr-un iris ceva mai diafan, fără o depigmentare aparentă.

c) **Boala Wilson** la heterozigot poate fi prezentă numai prin excreția urinară a unor aminoacizi specifici, a prezenței izolate a inelului Kayser-Fleischer sau prin tulburări în sinteza ceruloplasminei.

d) **Cheratoconul**: poate să se manifeste la heterozigoți numai prin existența unui astigmatism cornean de un grad mai mare.

e) **Sindromul Laurence-Moon-Bardet-Biedl**: la heterozigot poate fi prezent numai prin semnele minore ale sindromului: obezitate, polidactilie, surdomutitate etc.

B. HETEROZIGOȚI PENTRU GENE AUTOZOMALE DOMINANTE CU MANIFESTARE TARDIVĂ

1. **Glaucomul primar**: poate să nu se manifeste mult timp decît în urma probelor de provocare, a examenului tonografic sau a gonioscopiei.

2. **Distrofia epitelială Fuchs**: are o dominanță neregulată, cu o penetranță incompletă. Heterozigotul prezintă: *corneea guttata* sau cute ale endoteliului cornean.

C. HETEROZIGOȚI PENTRU GENE CU PENETRANȚĂ INCOMPLETĂ SAU CU O EXPRESIVITATE DIMINUATĂ

1. FACOMATOZELE

a) *boala Recklinghausen*: la heterozigoți se manifestă prin cîteva pete cutanate, culoarea „cafelei cu lapte”;

b) *scleroza tuberoasă sau boala Bourneville*: apare, la heterozigoți sub forma unor adenoame sebacee sau tulburări psihice;

c) *angiomatoza retino-cerebrală sau boala v. Hippel-Lindau*: poate să se manifeste numai ca o angiomatoză retiniană izolată;

d) *angiomatoza neuro-cutanată sau boala Sturge-Weber-Krabbe*: poate avea ca singură manifestare, un *naevus flammeus* al pielii feței.

2. SINDROMUL MARFAN

Poate să se manifeste numai cu subluxație izolată a cristalinelor (a nu se confunda cu subluxația din homocistinurie), cu arahnodactilie izolată sau cu cardiopatie congenitală.

3. SINDROMUL SCLEROTICELOR ALBASTRE SAU SINDROMUL VAN DER HOEVE

Apare la heterozigoți sub forma culorii albastre a scleroticelor, fără alte semne caracteristice (fragilitate osoasă, surditate etc.).

BIBLIOGRAFIE

1. Badke G. — Die Missbildungen des menschlichen Auges, *Der Augenarzt* vol. IV, Ed. G. Thieme, Leipzig, 1961, p. 2—23.
2. Bell — (cit. Duke-Elder).
3. Blach R. K., Barrie J. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1968, 52, 718—719.
4. Cagianut B. — Augenbefunde bei Chromosomkrankheiten, *Ophthalmologica (Basel)*, 1968, 155, 148—166.
5. Duke-Elder, sir St. Heredity — System of Ophthalmology, Ed. H. Kimp-tom, Londra 1952, VII, 1—113.
6. Edwards și colab. — (cit. Cagianut).
7. Franceschetti A., François I., Babel J. — Les hérédodégénérescences chorio-rétiniennes (dégénérescences tapéto — rétiniennes), vol. 2, Ed. Masson, Paris, 1963, p. 1709.
8. François J. — L'hérédité en ophtalmologie, Ed. Masson, Paris, 1958, p. 870.
9. Heimann K. — Histopathologische Augenveränderungen beim D₁ — (13—15) Trisomie-Syndrom, *Genetik Ein Beitrag zur Ätiologie okularer Missbildungen*, „Bücherei des Augenarztes“ 50, Stuttgart, 1968 p. 66—81.
10. Lejeune — (cit. Cagianut).
11. Lejeune, Turpin, Gauthier — (cit. Saraux).
12. Manschott W. A. — Die kongenitale primäre Aphakie in genetischen Sicht, *Klin. Mbl. Augenheilk.*, 1969, 154, 1—11.
13. Nettleship — (cit. Duke-Elder).
14. Patou și colab. — (cit. Saraux).
15. Rieger H. — Erbpathologie des Auges, *Der Augenarzt*, vol. I, Ed. Thieme, Leipzig, 1958, p. 125—241.
16. Saraux H. — Signes oculaires des maladies par aberrations chromosomiques, *Bull. Soc. Ophthal. Paris*, 1968, 68, 571—579.
17. Schade H. — Korrelationen zwischen Chromosomaberrationen und klinischen Status, *Genetik Ein Beitrag zur Ätiologie okularer Missbildungen*, Bücherei des Augenarztes, nr. 50, p. 23—44 Enke, Stuttgart, 1968.
18. Sorsby A. — Genetically determined anomalies *Modern Ophthalmology*, vol. II, Ed. Butterworths, Londra, 1963, 33—75.
19. Wald D. — Molecular Basis of Visual Excitation, *Science*, 1968, 162, 230—239.
20. Weekers și colab. (1956) — (cit. François).
21. Wold — (cit. François).

ERORILE ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM

Octavia Mărgineanu

Ca o consecință directă a progreselor realizate în domeniul cercetărilor biochimice la nivel molecular, s-a ajuns la dezmembrarea de entități etionosografice precise din grupa mare a bolilor așa-zise „idiopatice“.

Genetica metabolică a permis conturarea în ultimele decenii a unui nou capitol de patologie, acela al „erorilor înnăscute de metabolism“.

Dacă în ultimul timp, unele îmbolnăviri au îmbrăcat aspecte clinice noi datorită modificărilor condițiilor ecologice, epidemiologice și bacteriologice, erorile înnăscute de metabolism sînt noi prin faptul că ele au fost recunoscute și descrise mai recent. Denumirea aparține lui Garrod care, în 1902, descriind alcaptonuria demonstrează în același timp că fiecare genă intervine într-un proces biochimic specific al metabolismului celular (4,16). Ulterior au fost semnalate o serie de alte tulburări metabolice provocate de lipsa congenitală a unor enzime absolut necesare metabolismului intermediar normal, care au fost incluse, pe baza mecanismului patogenetic comun, în același cadru de patologie.

Pentru a sublinia legătura dintre gena mutantă și anomalia moleculară corespunzătoare, Pauling le-a numit „boli moleculare“.

Avînd în vedere faptul că funcționalitatea intrinsecă a fiecărei celule este tulburată în cadrul unei asemenea îmbolnăviri, termenul generic dat de Waldenström de „patologie fundamentală“ (18) subliniază o dată mai mult importanța clinică a entităților morbide care pot fi încadrate aici.

Fiind vorba despre un număr mare și mereu în creștere, o clasificare valabilă a bolilor moleculare este greu de stabilit. Aceasta și pentru faptul că actualele noastre cunoștințe în domeniul vast al biochimiei dinamice umane sînt fragmentare, iar în unele dismetabolii ignorăm chiar tulburarea biochimică specifică, genetic determinată, care caracterizează afecțiunea.

O clasificare provizorie, de utilitate practică, este cea făcută de Stambury, Wyngarrden și Fredrickson, în 1960, care are la bază criterii chimice, grupînd bolile după metabolismul interesat.

După natura intimă a procesului molecular, anomaliile metabolice congenitale pot fi enzimatice și neenzimatice. Ultimul grup cuprinde tulburările

metabolismului celular determinate de modificarea unei molecule neenzimatică, cel mai adesea fiind vorba de schimbarea în secvența unor aminoacizi, ceea ce determină apariția unor compuși străini organismului. Exemplul clasic este anemia cu celule falciforme, în care acidul glutamic este înlocuit cu valina, dând o hemoglobină anormală.

Anomaliile moleculare enzimopatice se pot produce prin mecanisme diferite: prin blocaj metabolic, când datorită absenței sau sintezei insuficiente a enzimei respective se ajunge la acumularea metabolismului precursor, care are efect toxic și duce la leziuni variate de organ. Din acest grup fac parte: galactozemia, fenilketonuria și alte boli de stocaj. Alteori, prin blocaj, se ajunge la lipsa de sinteză a unui element terminal esențial pentru organism, cum ar fi: absența pigmentilor melanici în albinism prin deficit în tirozinază sau absența hormonului tiroidian în anomaliile congenitale ale sintezei hormonului.

Un alt mod de producere a bolilor moleculare enzimatică este prin tulburarea mecanismului de transport la nivel de membrană, a tubilor renali sau a peretelui intestinal. Rahitismul vitamino-rezistent este generat de lipsa de absorbție a calciului la nivelul intestinului și de retroresorbție a fosforului la nivelul tubilor. În sindromul de Toni-Debré-Fanconi, este tulburată retroresorbția concomitentă a fosforului, aminoacizilor și a glucozei. Consecințele patologice ale anomaliilor de transport sînt variabile: uneori extrem de benigne (glicozuria renală), alteori severe sau foarte severe (alactazia, sindromul de Toni-Debré-Fanconi).

Conceptul lui Beadle, emis în 1945, „o genă = o enzimă“, perfectat apoi „o genă = un polipeptid“ (4,18) nu satisface totdeauna explicarea manifestărilor clinice ale unei anomalii genetice. Numeroase boli ereditare constau într-o asociere de tulburări ca dovadă a efectului pleiotropic al genei mutante. Efectul primar și unic al genei se poate manifesta prin alterări variabile după organe și sisteme (de exemplu în gargoilism s-au pus în evidență două substanțe de depozitare: glico-lipidică în sistemul nervos central și mucopolizaharidică în ficat). Dacă se apreciază însă structura intimă a acestor molecule, se constată că tulburarea este unică, interesînd hexozamina care le este comună (Brante, Klenk) (1).

Dacă polipeptidul lipsește în totalitate, sinteza enzimei nu are loc. Procesele metabolice pe care această enzimă le dirijează vor fi deviate în așa măsură de la normal, încît clinic tulburarea va avea o expresie majoră. În acest sens, lipsa totală a lactazei duce la forma clinică majoră de alactazie cu caracter letal.

Dar în afară de calitățile intrinseci ale genei, de dozajul genei (hetero- sau homozigoția), conceptele de penetranță și expresivitate în genetica umană sînt în funcție de influențele peristazei, factori accesibili intervenției medicale (2, 4, 16). De exemplu un regim fără lapte poate duce la lipsa de expresivitate a defectului genetic și transformă o afecțiune neviabilă într-una viabilă. Demonstrativă este și hemocromatoza (tegumente pigmentate, cianoză și diabet). După criteriile clasice, gena mutantă ar avea o penetranță slabă la femei și variabilă la bărbați. În realitate, ea determină la toți aceeași absorbție excesivă de fier, dovedită prin sideremia la fel de crescută, dar la fete după pubertate ea este compensată prin pierderile menstruale, ceea ce evită supra-

încărcarea și consecințele sale. Un alt exemplu concludent de felul cum se conturează clinic o boală ereditară moleculară este boala Hartnup, în care se realizează un blocaj al metabolismului intermediar al triptofanului cu eliberare în cantitate mare de produși indolici, răspunzători de tulburările neurologice și de ataxia cerebeloasă. Flora bacteriană intestinală favorizează și ea eliberarea de indol. Dacă se înlătură bacteriile prin neomicină, dispăre ataxia cerebeloasă (2, 18).

Variațiile gradului de penetranță a genei sînt răspunzătoare de diferențele fenotipice ale genotipurilor care poartă aceeași genă mutantă. Purtătorii unei aceleiași boli moleculare pot prezenta diferențe individuale în simptomatologia clinică, de la absența completă a tuturor semnelor funcționale și fizice pînă la tabloul unei îmbolnăviri grave de durată variabilă.

Expresivitatea mutației genetice din punctul de vedere al clinicianului depinde și de locul pe care defectul enzimatic îl ocupă în metabolismul intermediar (pentru sugar, absența lactazei duce la imposibilitatea scindării lactozei cu tulburări digestive și de nutriție imediate și severe, în timp ce lipsa galactozo-1-fosfaturidiltransferazei, care intervine în metabolizarea celulară a galactozei, se manifestă clinic printr-o suferință generală interesînd organele vitale). Lipsa enzimei nu este factor letal în sine, ea produce o boală severă clinic manifestă, care poate avea sfîrșit letal datorită tulburărilor secundare ale funcțiilor organelor centrale (creier, ficat, rinichi).

Alteori, defectul enzimatic devine manifest clinic numai în momentul în care lanțul metabolic deficitar este angajat într-un proces de apărare sau de detoxifiere (ex. purtătorii hemoglobinei Zürich sau ai deficitului în glucozo-6-fosfatdehidrogenază, sensibili la medicamente de tipul sulfamidelor sau anti-paludicelor, în contact cu acestea fac anemia hemolitică).

Pentru clinician, un domeniu mai greu de abordat este acela de a preciza tipul de transmisie ereditară a erorii înăscute de metabolism. Dominanța sau recesivitatea este diferită, potrivit punctului de vedere conform căruia este privit cazul: la sugarul cu galactozemie ai căror părinți sînt asimptomatici, caracterul pare să fie de tipul recesiv. Investigațiile biochimice arată însă lipsa totală a enzimei în eritrocitele copilului și lipsa parțială la părinți. Din punctul de vedere al biochimistului, defectul enzimatic are caracter dominant. Astfel, noțiunile de dominanță și recesivitate privesc efectele genelor și diferențele lor fenotipice. În aceste condiții, Lamy și Frezal propun să se vorbească de „manifestare variabilă a genelor” ea depinzînd de cantitatea materialului genetic și de multiplii factori genetici sau de mediu (11).

Plecînd de la aceste premise teoretice, întrebarea ce se impune în primul rînd în practică este: cum se manifestă o enzimopatie congenitală, mai precis o boală moleculară la copil? Cele mai multe determină apariția unor simptome generale necaracteristice, ca: dezvoltare somatică insuficientă, hipotonie musculară, defecte psihice și ale organelor de simț. Altele însă merg cu simptome tipice determinate de natura metabolismului deranjat și de locul pe care enzima îl ocupă în procesul metabolic.

În expunerea de față mă voi referi în special la aspectele clinice și terapeutice ale îmbolnăvirilor provocate de defectele înăscute de metabolism, la

vîrsta copilăriei. Voi selecta pentru exemplificare din fiecare grup pe cea mai expresivă sau pe aceea care pune probleme de diagnostic diferențial și cu deosebire mă voi referi la cazurile pe care am avut ocazia să le diagnosticăm în clinica noastră în ultimul deceniu.

Anomaliile genetice ale metabolismului glucidic pot realiza fie un sindrom de malabsorbție prin lipsa congenitală a unei enzime care intervine în procesul de scindare, a dizaharidelor, fie o boală de teaurizare cînd lipsește enzima care intervine în degradarea intermediară a hidraților de carbon, fie o simplă meliturie prin defect de retroresorbție tubulară (4, 5).

Cea mai expresivă dintre enzimopatiile enterale este dizaharidoza descrisă de Durand, în 1958, ca intoleranță la lactoză și de Holzel, cu 1 an mai tîrziu, ca alacatazie. Dacă pînă acum un deceniu foloseam de la catedră dictonul „o mamă sănătoasă poate și este chiar obligată să-și alăpteze copilul propriu”, înțelegînd prin aceasta că nu există motiv de contraindicație la alimentația naturală, astăzi sîntem în situația să atragem atenția asupra existenței acestui sindrom de intoleranță la lactoză. Cazuistica noastră însumează, în decurs de 6 ani, 4 cazuri (2 cazuri cu expresivitate maximă și caracter letal și 2 cazuri cu evoluție benignă). La sindromul de malabsorbție cu scaune multiple, diareice, acide, fără steatoree, se adaugă rapid sindromul de malnutriție, determinînd instalarea unei distrofii severe. Confirmarea diagnosticului o face prezența lactozei în urină.

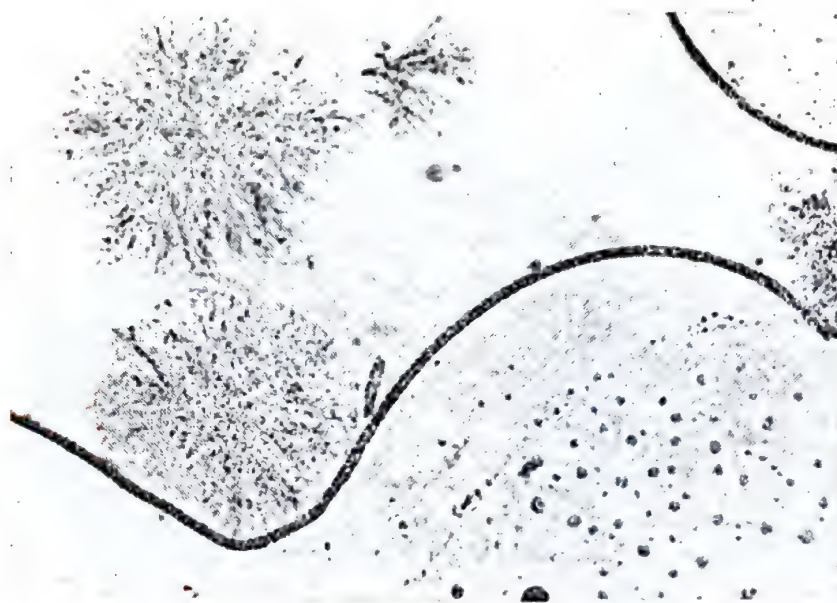


Fig. XV, 1. Evidențierea lactozazonelor prin proba cu fenilhidrazină.

Important pentru diagnostic este aspectul patologic plat al curbei de încărcare *per os* cu lactoză.

Valoare diagnostică mai are și proba terapeutică: scoaterea laptelui din alimentație duce la normalizarea scaunelor, dispariția corpurilor reductori în urină și ascensiunea curbei ponderale.

Caracterul ereditar s-a putut stabili la 2 dintre cazuri, prin evidențierea curbei patologice la încărcarea cu lactoză la mame, urmată de un tranzit intestinal modificat.

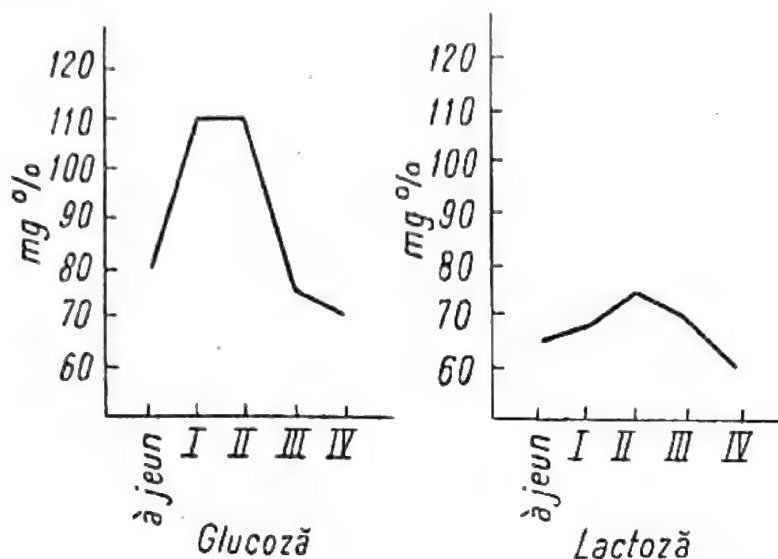


Fig. XV, 2. Curba glicemiei: normală la încărcarea per os cu glucoză și plată la lactoză

Faptul că nu în toate cazurile sindromul diareic apare în primele zile după naștere, s-ar explica după unii autori prin posibilitatea de sintetizare de către organismul matern al lactazei, așa încât abia după un timp, anomalia devine manifestă în toată gravitatea ei. Alteori, deficietul enzimatic poate fi numai parțial, ceea ce permite sugarului să suporte o anumită cantitate de lactoză și simptomatologia clinică să fie mai estompată (19, 20).

Diagnosticul se impune precoce, căci deshidratarea, hipotrofia cu riscul suprainfecției, amenință viața sugarului.

Dacă pînă nu de mult prezența unui icter la nou-născut ridica doar cîteva probleme de diagnostic diferențial, astăzi se cunosc cauze și mecanisme multiple, care duc la apariția acestui sindrom. Persistența unui icter în prelungirea celui „fiziologic” impune și prezumția unui icter enzimopatic din galactozemia congenitală. Defectul congenital constă din lipsa galactozo-1-uridiltransferazei, blocîndu-se astfel primul din cele trei stadii metabolice ale galactozei. Manifestările clinice ale bolii se datoresc efectului toxic al galactozo-1-fosfatului asupra metabolismului celular, ele apar la cîteva zile după alimentația cu lapte, sînt reversibile și dispar lent după excluderea lactozei din regim. Gravitatea leziunilor tisulare este proporțională cu cantitatea de lactoză ingerată și cu durata ingestiei. Afecțiunea se manifestă prin: apatie, dificultăți în alimentație, vărsături, scădere în greutate, apariția corpurilor reductori în urină. Rapid se instalează icterul cu hepatosplenomegalie, evoluție spre steatoză, apoi ciroză cu ascită. Atingerea renală se traduce prin: albuminurie, cilindruerie, aminoacidurie, iar dacă acțiunea citotoxică se prelungește duce la leziuni ireversibile de cataractă și debilitate mintală.

Testul de toleranță la galactoză este riscant, căci produce hipoglicemie, uneori foarte accentuată, prin aglomerare de galactozo-1-fosfat, care inhibează probabil fosfoglucomutaza (după Sielburg) (20). Recent, Isselbacher a pus în

evidență o cale metabolică accesorie a galactozei prin intervenția uridilgalactozopirofosforilazei, enzimă inactivă la naștere și care se maturează la vârsta adultă. Ea permite galactozo-1-fosfatului să scurtcircuiteze blocajul metabolic

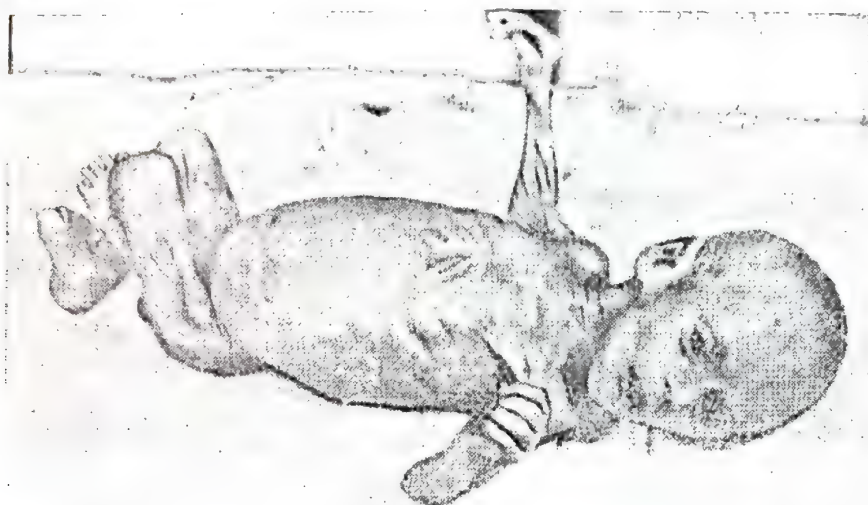


Fig. XV, 3. Atrepsie prin „intoleranță la lactoză” la un sugar de 3 luni,

primitiv și să pătrundă din nou în circuitul glucogenezei. Fenomenul ar putea explica varietatea tablourilor clinice și faptul că unele persoane ajung să tolereze galactoză la adolescență (8).

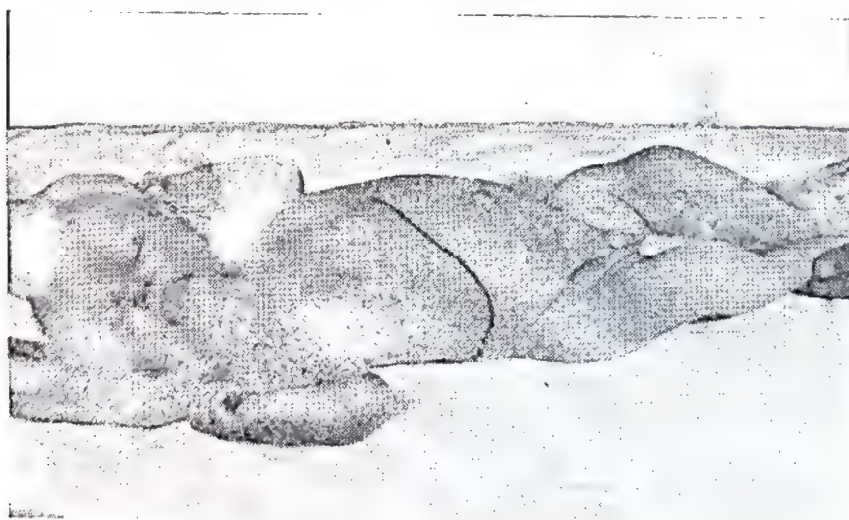


Fig. XV, 4. Hepatomegalie în cadrul galactozemiei congenite la un sugar în vîrstă de 3 săptămîni

Un număr de două cazuri sînt urmărite de noi: primul, diagnosticat tîrziu, la vîrsta de 4 săptămîni, nu a mai putut fi salvat, sfîrșind după cîteva zile de la internare în mare insuficiență hepatică, al doilea diagnosticat în primele 10 zile de viață, astăzi în vîrstă de 3 luni, are o evoluție satisfăcătoare. Datorită

lipsei preparatelor industriale înlocuitoare de lapte, l-am hrănit cu un amestec de făină de orez, ou, glucoză și acizi aminați; am administrat de asemenea perfuzii de plasmă și acizi grași. Nu am reușit să obținem o stare de nutriție dintre cele mai bune, greutatea la 3 luni fiind de 4 200 g, în schimb, efectele toxice au fost îndepărtate. Icterul a cedat, nu au apărut cataracte, nici tulburări nervoase.

Tezaurismozele în care este afectat metabolismul glicogenului, glicogenozele, realizează entități individualizate clinic și biochimic, depinzând se pare de gene diferite. Tulburările biologice sînt consecința blocării transformării glucozo-6-fosfatului în glucoză prin absența activității glucozo-6-fosfatazei și acumularea consecutivă a glicogenului în ficat, rinichi, inimă sau mușchi. S-au descris pînă în prezent 7 tipuri de îmbolnăvire după locul pe care îl ocupă blocada în lanțul metabolic și acumularea diferențiată în organe: boala Von Gierke, cu depunere de glicogen în ficat și rinichi; boala Pompe, cu depunere cardiacă și glicogenoza neuromusculară Gunther, fiecare cu simptomatologie particulară imprimată de insuficiența funcțională a organului respectiv. Tipul Forbes este forma cea mai benignă în care lipsește amilo-1, 6-glicozidaza, blocajul producîndu-se la legăturile 1—6, nu 1—4 ca la cele anterioare.

În această situație se permite fosforilarea ramurilor exterioare ale moleculei de glicogen, glicoliza, cît și gliconeogeneza. Mobilizîndu-se astfel o cantitate suficientă de glucoză, acești bolnavi pot deveni normali.

Există și cazuri de glicogenoză cu dublu defect enzimatic, după cum în aceeași familie pot apărea forme disociate.

Tratamentul nefiind în stare să corijeze anomalia biochimică, încearcă să mențină glicemia în limite fiziologice printr-un regim bogat în proteine (la

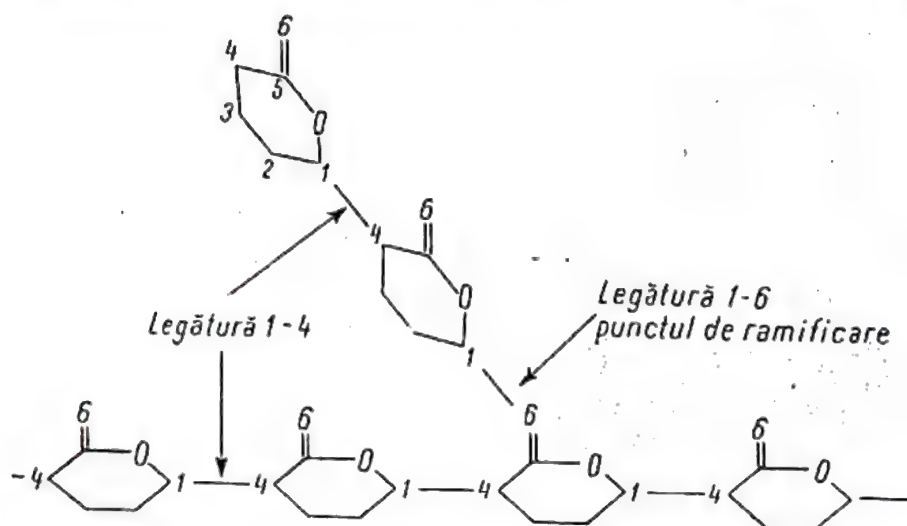


Fig. XV, 5. Formarea moleculei de glicogen din glicozide prin legăturile 1,4 și 1,6.

sugar se îmbogățesc proteinele în lapte pînă la 40%). Organismul utilizează glucozo-6-fosfatul provenit din proteine. De asemenea se vor administra cantități mici și repetate de lichide și bicarbonat de sodiu pentru combaterea hipoglicemiei și acidozei. Încercarea administrării de ACTH și corticosteroizi,

precum și a glucagonului (recomandat de Gitzelmann, în 1957) pentru ameliorarea hipoglicemiei sînt rezultate certe.

Tezaurizarea anormală de lipide în sistemul reticuloendotelial și histiocitar produce o serie de boli cu particularități deosebite chimic, anatomopatologic și clinic. Tulburarea metabolică se produce la nivel intracelular, constînd din depunerea unei lipide particulare (sfingolipid) cu cele 3 varietăți: cerebrozidele în boala Gaucher, sfingomielina în boala Niemann-Pick și gangliozele în idiozia amaurotică Tay-Sachs. Ultimile două, interesînd cu precădere sistemul nervos central, se caracterizează clinic, pe lîngă insuficiențele funcționale generale cu hepatosplenomegalie, și prin grade diferite de tulburări în dezvoltarea psihică. Evoluția este progresivă; splenectomia impusă de inhibiția medulară splenogenă nu vindecă afecțiunea. Bolnavul urmărit de noi cu boala Gaucher, splenectomizat la vîrsta de 6 ani, se prezintă după 5 luni de la splenectomie cu fenomene grave de insuficiență cardiorenală.

Numărul afecțiunilor genetice produse prin sinteza defectuoasă a proteinelor plasmatică este în continuă creștere. După locul pe care îl ocupă tulburarea ereditară în cursul sintezei proteinelor, disproteinemia se traduce prin tulburări clinice diferite: absența oricărui potențial imunitar în tulburarea congenitală a sintezei γ -globulinelor; tendința la hemoragii, în absența congenitală a unor fracțiuni globulinice cu rol în coagulare.

Din 1952, de cînd Burton descrie pentru prima oară un caz de agammaglobulinemie congenitală la un băiat de 8 ani, care de la vîrsta de 4 ani și jumătate a prezentat 19 episoade infecțioase severe (mai adesea pneumonii cu 10 hemoculturi pozitive), cazurile descrise în literatura medicală s-au înmulțit, dînd posibilitatea să se contureze mai bine din punct de vedere nosografic (16).

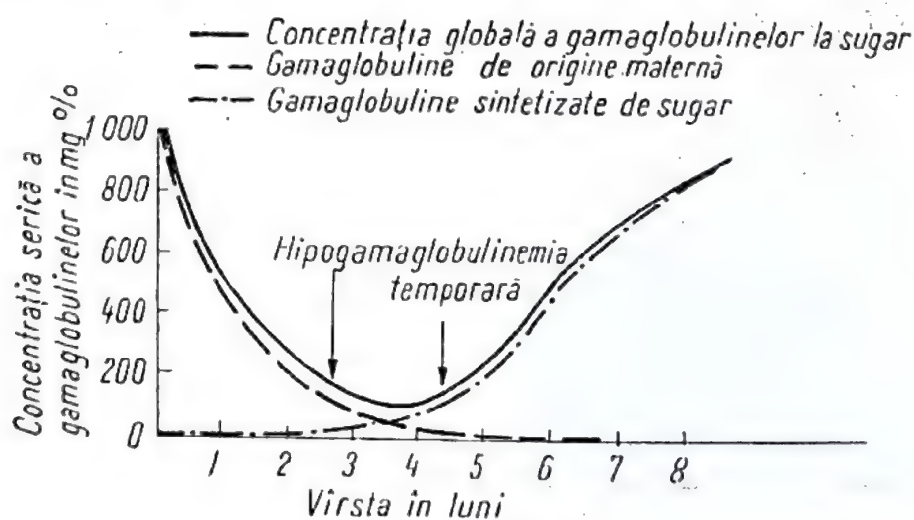


Fig. XV, 6. Hipogammaglobulinemia fiziologică a sugarului (Barrett, Volwiller).

Trăsătura esențială a acestei anomalii este incapacitatea de formare a anticorpilor, mai cu seamă față de germeni piogeni. „Paralizia imunologică” nu se manifestă față de infecțiile cu germeni gramnegativi, ca și față de infecțiile virale, datorită faptului că sistemul properdinic și activitatea complementară

a serului sînt indemne. Defectul în sinteza γ -globulinelor este dat de absența plasmocitelor în țesutul limfoid hipoplazic (5, 16, 18). Diagnosticul nu se face mai de grabă de 6 luni, pînă la această vîrstă agammaglobulinemicul avînd o cantitate de anticorpi primiți transplacentar.

La naștere, nou-născutul tarat posedă în serul său o concentrație de γ -globuline egală cu cea a adultului, în jur de 900 mg/100 ml care provine în întregime din transferul pasiv al γ -globulinelor materne în cursul ultimelor luni de graviditate. Acest stoc este complet epuizat la vîrsta de 6 luni, cînd concentrația γ -globulinelor scade sub 100 mg/100 ml.

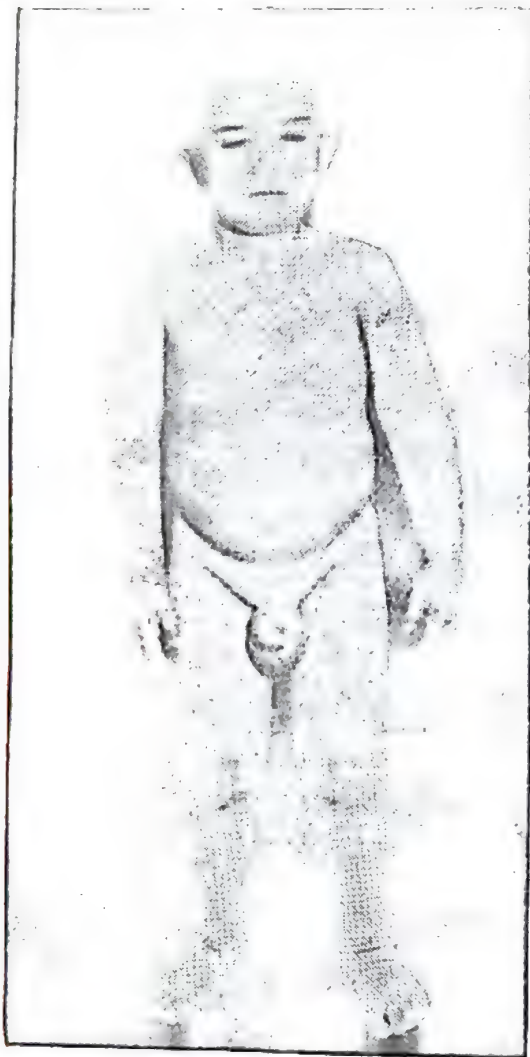


Fig.XV,7. Disproteinemie prin hipoalbuminemie și agammaglobulinemie congenitală la un copil de 4 ani.

În afară de importanța sa practică, agammaglobulinemia congenitală ridică probleme mai dificil de rezolvat din punct de vedere genetic. Clasic se întâlnește carența paralelă a celor 3 imunoglobuline (β_2 A, β_2 M și γ -globuline). Mai recent s-a descris: normogammaglobulinemie cu lipsa β_2 M-globulinei și cu paralizie imunologică. De aceea se pare că mai corectă ar fi denumirea de „sindromul lipsei congenitale de anticorpi” propus de Laplane (12).

Cazul urmărit de noi vine să susțină această idee: copil în vîrstă de 4 ani, a cărei suferință a devenit clinic manifestă la 2 ani printr-o angină pultacee și edeme. De atunci face repetate infecții pulmonare și otite febrile. Edemul are un aspect particular de sclerem, ajungînd uneori pînă la anasarcă. Cu intermitență apar scaune diareice. În evoluție se instalează hepatomegalia, hipocauzia și tulburările de comportament cu lipsa oricărui potențial imunitar.

Examinări de laborator: proteine totale între 4,5 pînă la 6,8 g%; V.S.H. 7—24 mm. În secreția faringiană: streptococ hemolitic, dar titrul ASLO la repetate determinări este zero. Leucograma: polinucleare neutrofile 82%, limfocite 16%, monocite 2%. În medulogramă lipsesc plasmocitele. Electroforeza: albumine 47%; α_1 globuline 8%; α_2 -globuline 32%; β -globuline 13%; γ -globuline 0%. Imunelectroforeza: lipsa totală a liniilor γ -globulinelor și β_2 M-globulinelor. Linia β_2 A netă, cu ușoară specificitate față de normal. Hipohaptoglobulinemie prin lipsă de linii. Linia α_2 -macroglobulinelor ușor intensificată. Tabloul umoral impune diagnosticul: disproteinemie prin hipoalbuminemie și agammaglobulinemie.

Pentru caracterul ereditar al bolii pledează aspectul imunelectroforezei și proteinogramei la părinți. La mamă: hipoalbuminemie, hipoglobulinemie prin intensă hipogammaglobulinemie, β_2 M-globulinele avînd același aspect ca și la copil; hipohaptoglobulinemie, haptoglobulina cu dublă curbură; hipo α_2 -globulinemie prin lipsă de linii. La tată: hipoalbuminemie 32,7%, α_1 -globuline 5,34%, α_2 -globuline 11,7%, β_1 și β_2 -globuline 21,44%, γ -globuline 27,27%.

Defectul genetic în cazul nostru a avut o expresivitate clinică majoră, constituind un factor letal, copilul a sucombat după 4 luni, cu toate încercările de terapie substitutivă și patogenetică: γ -globuline, Omnadin, transfuzii de plasmă și de acizi aminați, transplant de măduvă și grefe de timus.

Cei doi părinți sînt purtători ai genei aberate fără expresivitate clinică, ci numai biologică: probabil este vorba despre un heterozigotism.

Încadrarea mucoviscidozei în grupul mare al anomaliilor înnăscute ale metabolismului proteic a suscitat controverse. Ca urmare a dereglării unui mecanism enzimatic intracelular, se produce o deficiență a tuturor celulelor producătoare de mucus. Creșterea vîscozității secrețiilor glandelor mucoase duce la obstruarea canalelor excretoare și la mărirea de volum a glandelor. Secundar apar modificări ale parenchimului nobil de organ (bronșiectazie, chisturi pancreatice, salivare, hepatice). Cercetările lui Di Sant'Agnese au dovedit că sudoarea și saliva bolnavilor prezintă o hiperelectrolitemie prin concentrație crescută de clor și sodiu. În lichidul duodenal și urina bolnavilor se pun în evidență mucoproteine anormale, mai bogate în fucoză și mai sărace în acid salic (3, 15, 24). O dovadă în plus în favoarea caracterului de eroare înnăscută de metabolism o constituie cercetările lui Spock (22), care a izolat în serul bolnavului, cît și la unii colaterali clinic îndemni, un factor legat de globuline, capabil să provoace, în experiment la șoareci, o diskinezie a mișcărilor cililor epiteliului traheobronșic.

Natura ereditară a putut fi astfel dovedită, transmiterea genetică pare să fie autozomal-recesivă, iar heterozigoții explică formele clinice minore cu simptomatologie disociată (4, 16).

Pentru pediatri, coexistența tulburărilor digestive cu afecțiuni pulmonare repetate, fenomene care apar încă de la vîrsta de sugăr, trebuie să aducă în discuție diagnosticul de mucoviscidoză.

Cazul nostru îmbracă o formă particulară, fiind diagnosticat la vîrsta de 11 luni cu ocazia unei intervenții chirurgicale pentru o tumoră ce ocupa hipocondrul și flancul stîng de mărimea unui cap de copil mic avînd punct de plecare capul pancreasului. Examenul histopatologic din fragmentul pancreatic pune în evidență o fibroză interstițială cu dilatare chistică a acinilor: aspect de mucoviscidoză. Examinările paraclinice efectuate postoperator: fermentii pancreatici în sînge 16 U.W., în scaun 80 U.W., testul de sudorație (Cl 90 mEq/l; Na 110 mEq/l), precum și clorul crescut (114 mEq/l) și sodiul crescut (134 mEq/l) în sudoarea mamei, pun în evidență modificările specifice fibrozei chistice de pancreas. Prezența în antecedente a 2 frați morți în primele luni de viață printr-un sindrom dispeptic sever vin să susțină diagnosticul. În plus, după 4 luni de evoluție favorabilă sub tratament dietetic și extracte pancreatice, copilul se reîntoarce pentru o afecțiune bronhopulmonară însoțită de manifestări digestive, fapte care dovedesc persistența bolii de bază.

Pentru importanța clinică deosebită merită a fi discutate tulburările metabolice ale acizilor aminați sulfurați. Cistinuria clasică se traduce prin eliminarea urinară masivă de cistină, lizină, arginină și ornitină, consecutiv defectului de retroresorbție tubulară. Manifestarea clinică majoră o constituie formarea de calculi, determinată de cristalizarea cisteinei în mediul neutru sau acid. Pe radiografia simplă, calculii sînt vizibili datorită conținutului în sulf. Dar diagnosticul se poate pune înainte de formarea calculilor, prin mirosul de hidrogen sulfurat al urinei care se descompune, prin evidențierea cristalelor de cistină în urină: hexagonale, clare, incolore, cu reacția Sullivan pozitivă (cu β -naf-

tochinonă dă o colorație roșie intensă). Cromatografic se pun în evidență cei 4 aminoacizi (16, 18).

Recent, autorii scandinavi (Rossemberg și Segal, în 1966) au dovedit că din punct de vedere genetic, cistinuria nu este unitară. Afară de forma complet recesivă și incomplet recesivă se descrie o cistinurie izolată mai benignă și o cistinlizinurie care se asociază mai adesea cu o enteropatie atrofică. După părerea autorilor, boala reprezintă o entitate nosologică, nu o asociere întâmplătoare. Deci, cistin-lizinuria trebuie privită ca o enzimopatie dublă, de retroresorbție tubulară și una de malabsorbție intestinală a acizilor aminați sulfurați. Ei propun denumirea de „intoleranță familială la proteine”, analogă intoleranței la dizaharide, clinic manifestându-se cu diarei care succed prinzurile bogate în proteine.

Tratamentul prin restricția proteinelor alimentare pentru a diminua excreția de acizi aminați, la copil comportă inconveniente serioase cu repercusiuni asupra creșterii și dezvoltării. Se caută să se diminueze excreția fie prin modificarea pH-ului pentru a crește solubilizarea cistinei, fie prin augmentarea debitului renal pentru a nu permite atingerea pragului său de saturație. Cantitatea de lichide ingerate, care trebuie să asigure o diureză mai mare de 2 ml/minut; să fie uniformă în tot decursul celor 24 de ore (este incomodă pentru copil, căci perturbă somnul de noapte). De asemenea, alcalinizarea urinei trebuie să asigure un pH mai mare de 7,6, necesitând pentru aceasta o cantitate până la 30 g zilnic de bicarbonat de sodiu (dificil de aplicat mai mult timp la copil). O terapie eficientă pentru dizolvarea calculilor și profilaxia recidivelor se face cu d-penicilamină, care solubilizează cisteina eliminând-o sub formă de cisteinpenicilamindisulfid. Trebuie avut în vedere fenomenele secundare: fiind o metalcaptază există primejdia spoliei de fier și de aceea se asociază fierul în tratament. Având efect antipiridoxinic, este necesară administrarea zilnică a 50—100 mg vitamină B₆. Terapia eficientă impune în continuare controlul sistematic al fraților cistinuricii, căci s-a dovedit prin studii genetice că aceștia au șanse 1/4 de a fi atinși.

Cistinuria este mai frecventă decât se cunoaște. Bostrom, în Suedia, a găsit printre 800 de copii din clasa I examinați, 3 cazuri complete și 11 tablouri incomplete de cistinurie (1).

Că litiaza urinară nu este o boală locală ci un simptom în cadrul unei anomalii congenitale dismetabolice o dovedește în plus și oxaloza, eroare congenitală în metabolismul glicocolului. În lipsa enzimei care transformă glicoxilatul în acid formic se adună acid oxalic sub formă de oxalat de calciu în întregul organism, dar cu precădere la nivelul rinichiului și apare tabloul morbid al oxalozei cu colici caculoase recidivante. Și cum oxaloza nu este o boală foarte rară, diagnosticul se impune precoce, căci administrarea benzoatului de sodiu scade concentrația glicocolului în toate umorile organismului și consecutiv sinteza de acid oxalic. Astfel se face o profilaxie a formării de calculi.

De importanță practică pentru pediatru este cunoașterea faptului că la copil pot apărea convulsii în cadrul degradării vicioase a triptofanului. Pentru metabolizarea sa, piridoxina are un rol catalitic important. În lipsa vitaminei B₆ se elimină în urină un metabolit neobișnuit, acid xanturenice, găsit în

urina sugarilor care au prezentat convulsii. În interpretarea etiopatogenetică a sindromului convulsiv la sugari se impune deci să se țină seamă și de această posibilitate, pentru instituirea unei terapii corecte.

Nu pot încheia fără să nu amintesc anomaliiile înnăscute în metabolismul acizilor aminați cu repercusiuni severe asupra dezvoltării psihice a copilului, afecțiuni care recunoscute din timp, încă în primele luni de viață, beneficiind de un regim dietetic lipsit de acidul aminat responsabil, pot preveni instalarea tulburărilor mintale.

În afară de cunoscuta boală Fölling — idioția fenilpiruvică — s-a descris mai recent: homocistinuria, în care defectul enzimatic constă din lipsa cistationinsintetazei necesară pentru transformarea metioninei în cistină. Se acumulează homocistina a cărei eliminare urinară se pune în evidență prin reacția cu cianid-nitroprusiat, dând o colorație roșie. În afară de tulburările psihice care merg cu diferite grade de oligofrenie, ne atrage atenția aspectul clinic: roșeața intensă a obrazilor, părul rar, mersul balansat, deformări osoase cu osteoporoză severă, modificări care cresc ca expresivitate cu vârsta. Frecvent se întâlnesc complicații grave tromboembolice, prin defect vascular de lizare a cheagului și probabil și defect endogen în coagulare. Dacă homocistinuria se întâlnește mai rar decât fenilcetonuria, este pentru faptul că subiecții mor subit prin tromboembolii. Importanța practică a recunoașterii afecțiunii este deosebită, fiindcă o dietă săracă în metionină cu un adaos de cistină ameliorează afecțiunea.

Tratamentul corect al defectelor enzimatice impune deci să se țină seama și de eventualele efecte secundare determinate de lipsa cataboliților, care succed blocajul enzimatic. De aceea, în regimul alimentar, în afara limitării acelor produși care iau naștere înaintea blocajului enzimatic se adaugă și cei de după blocaj.

Erorile congenitale de metabolism au fost socotite foarte rare atâta timp cât nu au fost studiate. Incidența lor s-a dovedit a fi mai mare decât s-a crezut, dar se ascund în spatele unor sindroame de natură variată, cum ar fi: boala calculoasă, insuficiența cronică digestivă, deficiențe psihice etc., fapt care le conferă o importanță practică, deosebită, mai cu seamă în pediatrie.

Frecvența lor în general este dată între 1/3 000 pentru mucoviscidoză (9) și 1/50 000 pentru galactozemie (Thalhammer) (5).

Dacă formele cu manifestări clinice majore sînt mai rar întâlnite datorită selecției naturale, apoi purtătorii aberațiilor biochimice, clinic asimptomatici, sînt mult mai numeroși, așa cum a reieșit și din cazurile noastre.

Cunoașterea erodopatiilor metabolice se impune clinicianului nu atît pentru importanța teoretică a problemei, cît pentru valoarea ei practică, rezultatele terapeutice fiind în parte încurajatoare. Dacă substituțiile genice directe de ADN ni se par în prezent de nerealizat, peste un număr de ani ar putea deveni realitate. În schimb, medicina de astăzi ne oferă posibilitatea de a transforma o deficiență mintală aparent incurabilă într-o stare normală, cu condiția să fi fost diagnosticată de la naștere. Regimul sărac în fenilalanină (Lofenelac, Ketonil, lapte 3 200 B Mead. Johnson) sau lipsit de lactoză (Vegetact B, Nutramigen) s-a dovedit a fi eficace în toate cazurile aplicate înaintea apariției primelor simptome clinice.

De aceea, în unele țări se procedează sistematic prin teste de rutină, (metoda Gütthrie) la fiecare nou-născut, după 72 de ore, adică după hrănirea cu lapte pentru punerea în evidență din picătura de sânge sau din urină a tulburării enzimatică. Orice bănuială se controlează prin cromatografie în coloană, se tratează în spital, asigurându-i-se și preparatele dietetice corespunzătoare.

Genetica enzimelor deschide în plus o perspectivă pentru înțelegerea deosebirilor de sensibilitate față de îmbolnăviri, față de factorii stresanți și toleranța individuală diferită față de mijloacele terapeutice. Reacțiile de dezințoxicare, fie cea de acetilare, fie cea de glicuronidare sau cuplare cu glicina, acidul sulfuric sau prin oxidare stau toate sub control genetic (18).

O cunoaștere mai profundă a biochimiei normale și patologice ar substitui probabil, după Heusghem, noțiunea vagă de „teren” cu care medicii s-au familiarizat în fața evoluției neobișnuite a unei boli sau a răspunsului aberant al unei terapii, cu termenul mai corect, acela de „tulburări biochimice genetic determinate”, responsabile de anomaliile observate (8).

BIBLIOGRAFIE

1. Bichel H. — Metabolisch-genetische Krampfleiden, *Mschr. Kinderheilk*, 1963, 110, 3, 112.
2. Bichel H. — Stoffwechsel und Stoffwechselkrankheiten, B 111/1963, H. 7, p. 271.
3. Di Sant'Agnese P. A. — Die Zystische Fibrose der Pancreas Mucoviscidosis, *Dtsch. med. Wschr.*, 1961, 29, p. 1379.
4. Fanconi G. — Die angeborenen Anomalien des Kohlenhydratstoffwechsels, *Monat. fur Kinderheilkunde*, 1962, 110, 3, 138.
5. Fanconi G., Wallgren A. — Manual de pediatrie, ediția a 7-a, Ed. medicală, București, 1965.
6. Haggis G. H., Michie D. Muir A. R., Roberts K. B., Walker P. M. B. — Introducere în biologia moleculară, Ed. Științifică, București, 1968.
7. Harry Harris. — Unele aspecte generale ale variației enzimatică la om, *Lucrările Congresului al III-lea internațional de genetică umană*, Chicago, 1966.
8. Heughen C. — Quelques exemples intéressants de biochimie génétique pour le médecin praticien, *Rev. méd. Liège*, 1967, 22, 18, 516.
9. Houstek J. — Notre expérience à propos de la mucoviscidose, *Rev. méd. Liège*, 1967, 22, 15, 421.
10. Klein D. — Les progrès de la médecine et l'avenir génétique de l'homme, *Med. et Hyg.*, 1967, 783, 629.
11. Lamy M. Roger P., Frezal J. — Maladies héréditaires du métabolisme chez l'enfant, Ed. Masson, Paris, 1959.
12. Laplane R., Burtin P. — Studiul biologic și genetic al unui caz de agamaglobulinemie atipică, *Sem. Hôp. Paris*, 1962, 25/5, 1485.
13. Moraru I., Antohi St. — Introducere în genetica moleculară, Ed. medicală, București, 1966.
14. Mărgineanu Octavia, Schuster Tatiana, Mihalca Eugenia, Ionescu Doina — Aspecte variate ale erorilor înnăscute de metabolism la copil, *Pediatria Buc.*, 1966, 6, 535.
15. Megevan A. — La mucoviscidose, *Méd. et Hyg.* 1968, 815, 247.
16. Nelson W. E. — Traité de Pédiatrie, Erreurs congénitales du métabolisme, edit. M. Rappaport, ediția a 7 a, Ed. Maloine, Paris, 1961, p. 278—318.
17. Penrose L. S. — Introduction à la génétique humaine (colectiv), Ed. Armand Colin, 1962.
18. Schreier K. — Die angeborenen Anomalien des Eiweisstoffwechsels *Mschr. Kinderheilk.*, 1962, 10, 3, 129.

19. Schuster J. — Intolerance digestive au sucre chez l'enfant, *Guide Prat.*, 1968, 92, 27.
20. Schuster J. — Privire sumară asupra enzimologiei, De la teorie la clinică, *Guide Prat.*, 1968, 95, 189.
21. Stern C. — Cîteva aspecte generale ale geneticii umane, *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1967, 99, 5, 604.
22. Rossi E., Gugler E. — Puncte moderne de vedere în patogenia mucoviscidozei. *M Schr. Kinderheilk.*, 116, 5, 170.
23. Turpin R. Lejeune J. — Les chromosomes humains, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.
24. Vivell O., Iacobi H., Munchbach K. — Zür Mucoviscidosis im Kindersalter, *M Schr. Kinderheilk.*, 1963, 111, 2, 62.
25. Zollner N. — Die angeborenen Anomalien des Lipoidstoffwechsels, *M Schr. Kinderheilk.*, 1963, 110, 3, 148.

ASPECTE CITOGENE- TICE ÎN PATOLOGIA INFANTILĂ

Lidia Cucu-Cabadaief

Teoria cromozomială a eredității a dus la ipoteza că anomaliile cromozomiale pot antrena tulburări fenotipice importante, dar cunoașterea universului cromozomial sub multiplele lui aspecte și modificări a devenit posibilă doar în 1956 după ce J. A. Tjio și A. Levan (50) au stabilit numărul cromozomilor umani la 46 (44 autozomi și 2 gonozomi).

Această precizare va constitui fundamentarea unei patologii bănuite de mult ca fiind cromozomială de către Varrdenburg, Turpin și Caratzali (cit. 54), care pretindeau că mongolismul ar fi expresia unei anomalii cromozomiale.

După aplicarea metodelor moderne de citogenetică, culturi de celule, examenul măduvei hematopoietice, autoradiografierea cromozomilor, s-au putut identifica, ca fiind datorite unui defect genetic, o serie de sindroame particulare, cu modificări fenotipice întâlnite la copii.

Descoperirea, în 1959 de către J. Lejeune, M. Gauthier, R. Turpin (53), a anomaliei cromozomiale din sindromul Down a deschis în patologia umană capitolul trisomiilor.

Majoritatea bolilor genetice erau explicate, pînă la apariția citogeneticii printr-un schimb calitativ al mesajului ereditar. Citogenetica umană a introdus un concept nou în determinismul bolilor constituționale, acela al unui defect cantitativ, adică, o omisiune sau o repetiție a unor pasaje ale mesajului ereditar, informația conținută în această situație fiind de cele mai multe ori calitativ normală. Astfel se știe că trisomicii posedă tot mecanismul genetic fără nici o eroare în planurile de construcție a cromozomilor, dar ei suferă de un exces de informație genetică.

În legătură cu aberațiile cromozomiale trebuie reținute câteva fapte importante. Excesul unui cromozom acționează într-o manieră specifică asupra unor caractere funcționale sau morfologice și determină o anomalie caracteristică. Aberațiile cu plus de material genetic sînt compatibile cu viața, mai ales cînd trisomia interesează perechile 13 pînă la 22. Trisomiile 1—12 par incompatibile cu viața. Cromozomii 1—12 fiind cei mai mari cromozomi umani, este posibil ca individul să nu poată tolera acumulări de material genetic, cantitativ prea mari.

Pierderile de material ereditar au o acțiune mai evidentă, dar cunoașterea lor este de dată recentă, fiind observate la om doar în 1963. Pînă la această dată, delețiile erau presupuse neviabile, pentru că pe de o parte ele erau considerate ca fiind o lipsă gravă pentru organism, pe de altă parte ca permițînd exprimarea tuturor genelor recesive, defavorabile, eventual purtate pe cromozomul restant.

S-a constatat că aberațiile autozomale cromozomiale nu sînt compatibile cu viața cînd numărul de cromozomi este mai mic decît cel normal. Monosomiile sînt letale, cu excepția mozaicurilor.

Cunoașterea din ce în ce mai completă a unor procese morfogenetice, începînd cu perioada prenatală, a dus la conturarea unei patologii legate atît de modificarea cromozomilor autozomi, cît și a cromozomilor sexuali.

Anomaliile autozomale se pot diferenția în:

- a) Anomalii autozomale constituționale;
- b) Anomalii autozomale cîștigate postnatal.

În general, bolile autozomale au la bază:

- anomalii autozomale numerice prin exces de material cromozomial sau lipsă de material cromozomial;
- anomalii structurale ale cromozomilor;
- anomalii autozomale complexe numerice și cu remanieri structurale (fig. XVI, 1).

CLASIFICAREA ANOMALIILOR CROMOZOMIALE AUTOZOMALE

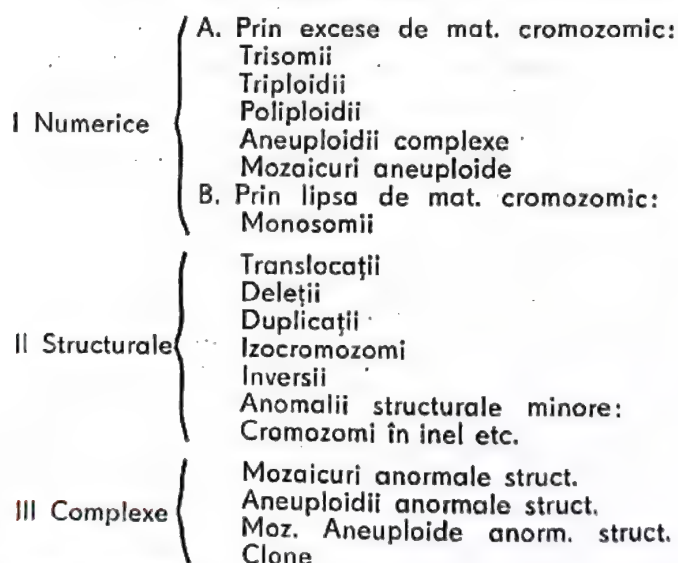


Fig. XVI, 1. Clasificarea anomaliilor cromozomiale autozomale.

În cele ce urmează ne vom ocupa numai de anomaliile autozomale constituționale. Anomaliile cromozomiale constituționale cînd antrenează un exces sau o lipsă de material ereditar, tulbură profund embriogeneza. Ele provoacă dismorfii și malformații legate de dezvoltarea aberantă și asincronă a diverselor sisteme viscerele, celulare și enzimactice subiecții afectați de aberații

autozomice dezechilibrate, fiind atinși de arierație mintală, malformații viscerale, scheletice, dermatoglice și hipodezvoltare pondero-staturală.

În ceea ce privește *cauzele anomaliilor cromozomiale*, nu sînt încă date suficiente și mai ales concludente.

Dacă toată lumea este de acord că unele aberații cromozomiale ca trisomiile rezidă din „nondisjuncția” cromozomilor în timpul gametogenezei la unul dintre genitori, cauza însăși a „nondisjuncției” rămîne încă necunoscută.

Se discută mult vîrsta înaintată a mamei, cu toate implicațiile complexe ale procesului de îmbătrînire, care ar favoriza apariția anomaliilor cromozomiale și ale unor malformații congenitale. După vîrsta de 40 de ani, frecvența sindromului Down ar fi de 2—3‰ din nașteri, iar frecvența malformațiilor de 17, 2‰ (53).

Unii autori (13) subliniază că pe parcursul vieții intervin o serie de factori endocrini, ginecologici, obstetricali, care ar putea contribui la apariția anomaliilor cromozomiale.

S-a arătat că pentru mamele tinere riscul de a avea un al doilea copil trisomic, este mai mare decît pentru cele în vîrstă (11), deoarece la femeia tînără, care a născut un copil cu anomalii cromozomiale, aberațiile cromozomiale sînt mult mai grave și se transmit mai frecvent. S-a semnalat ca important în apariția trisomiilor instabilitatea numerică și morfologică a cariotipului mamei, care fenotipic poate fi normală (8).

În apariția anomaliilor cromozomiale se discută importanța supramaturării ovulului în trompă sau în ovar sub influența unor factori care produc supramaturarea ca: barbituricele, virozele și bolile prin autoanticorpi (10, 15, 16). Se menționează (16) că infecțiile virale cu durată mare de incubare ar avea rol cauzal în apariția trisomiei 21. Faptul că în trisomia 21 sînt implicați tocmai acei cromozomi care se asociază obișnuit cu nucleolul care joacă rol în dezvoltarea intracelulară a virusului, sugerează aceste relații cauzale.

Unii autori cred că tulburările metabolice, diabetul zaharat sau survenirea simultană a acestora și a unor tulburări autoimune, ar putea avea rol în apariția aneuploidiilor (15).

În cadrul factorilor mutageni pe care nu-i vom discuta *in extenso*, ținem să amintim importanța radiațiilor ionizante (9).

Frecvența anomaliilor cromozomiale la nou-născutul viu se apropie de 1‰ (49). Multe dintre acestea nu sînt compatibile cu viața extrauterină și mor spre sfîrșitul primului an.

Cel mai frecvent tip de aneuploidie este trisomia. Incidența trisomiei este invers proporțională cu lungimea cromozomului implicat. O excepție de notat este absența trisomiei pentru grupul F, dintre cromozomii cei mai mici. Poate importanța informației genetice locată pe acești cromozomi să fie de o atare importanță, încît moartea să se producă înainte ca sarcina să fie detectată.

TRISOMIILE AUTOZOMICE

Cele mai frecvente anomalii autozomice sînt trisomiile. O trisomie autozomică se caracterizează prin prezența unui cromozom autozomic în exces. Garnitura cromozomică conține astfel 47 de cromozomi. Trisomiile autozomice

sînt denumite prin numărul perechii cu care elementul supranumerar poate fi împerechiat (după convenția de la Denver prin litera grupului, după C. Patau).

Dintre trisomiile cunoscute, doar trisomiile 13, 18 și 21 au un fenotip specific care ne permite diagnosticul prezumtiv clinic. Subiecții purtători ai aberațiilor cromozomiale nu oferă însă totdeauna o corespondență între cariotip și fenotip, ceea ce face imposibil diagnosticul doar pe criterii clinice.

În produsele de avort spontan, toate trisomiile autozomice au putut fi găsite (49). Majoritatea acestora, în afara celor menționate mai sus, sînt incompatibile cu viața extrauterină.

Trisomiile autozomice sînt rezultatul unui accident meiotic, în timpul formării gameților la unul din părinți, sau al unui accident mitotic, interesînd primele diviziuni ale zigotului. Acest ultim accident nu poate afecta decît subiectul atins și respectă alți membri ai fratriei. Modificările apărute intră în categoria fenocopiilor (mutații produse de mediu, care nu se transmit ereditar).

Cu totul excepțional, trisomia poate lua un caracter recurent și să afecteze mai mulți membri ai familiei. În acest caz, mecanismul normal al meiozei este perturbat de existența unei anomalii cromozomiale structurale, la unul dintre genitori, purtători heterozigoti ai unei translocatii. Această remaniere cromozomică duce la constituirea unei structuri noi, în care un cromozom este atașat de altul de o manieră definitivă și transmisibilă din generație în generație. Cînd această translocatie este „echilibrată“, adică nu antrenează nici lipsă, nici exces de material ereditar, ea nu are traducere fenotipică și purtătorul este normal. Dar prezența translocatiei perturbă mecanismul meiotic și poate duce la formarea gameților dezechilibrați. Descendența unor asemenea subiecți este formată în proporție statistică egală de 4 varietăți de zigoti: normal, translocat, trisomic și monosomic. Această ultimă varietate fiind letală, șansa de apariție a unui subiect trisomic este în principiu de $1/3$.

Trisomia 21 (sindromul Down) a fost izolată clinic de către Down în 1866 și precizată citogenetic de către I. Lejeune și colab. (53). Frecvența acestui sindrom se apreciază la un nou-născut la 600—700 de nașteri.

Modificări dismorifice: craniul copilului este mic, are formă sferică, ceafă plată, față rotundă, fante palpebrale strîmtate, oblice în sus și în afară. Prezintă epicant, iar hipoplazia piramidei nazale dă aspect de hipertelorism. Irisul are pe suprafață și în interior o coroană de mici noduli rotunjiți și albicioși, petele Brushfield, care corespund condensărilor bine limitate ale fibrelor conjunctive ale stromei iriene. Pavilionele urechilor sînt mici, uneori deformate, conductul auditiv putînd fi atrezic. Gura este mică, buze subțiri și crăpate, palat strîmt și ogival, limbă groasă fisurată, plicaturată și cu glossită exfoliatrice. Talia este mai mică decît mijlocie, datorită diminuării segmentului rizomelic. Mîna este scurtă și lată, degete scurte și groase, mai ales primul și al cincelea. Prezintă brahimezofalangie auriculară și clinodactilie. Nu arareori există și malformații viscerale.

De o mare importanță pentru perspectivele de cercetare ce se deschid, este faptul că în sindromul Down s-au constatat anomalii enzimactice la baza cărora stă încărcarea genică suplimentară. Astfel, s-a arătat că fosfataza alcalină a leucocitelor este crescută cu 50% față de normal (52). S-a găsit și

creșterea altor enzime, cum ar fi galactozo-1-fosfaturidiltransferaza, galactochinaza, fosfohexochinaza și glucozo-6-fosfatdehidrogenaza (cit. 54). (S-au constatat de asemenea și modificări metabolice; astfel, eliminarea urinară a diversilor metaboliți ai triptofanului este diminuată datorită unei accelerări a căii metabolice trecând prin hidroxikinurenină (54).

Dezvoltarea psihomotorie a acestor copii este întârziată. Se constată o arierație mintală care merge de la debilitate profundă până la câștigarea unor automatisme. Există totdeauna o hipotonie musculară cu hiperlaxitate ligamentară.

Uneori există modificări dermatoglice foarte apropiate de cele întâlnite la simienii inferiori: un singur pliu palmar de flexiune, frecvența pe eminența hipotenară a unei bucle cu deschidere cubitală, deplasarea distală a triradiusului axial, care poate atinge regiunea mediopalmară.

Cariotipul. În marea majoritate a cazurilor, trisomia este prezentă în toate celulele organismului accesibile examenului citologic. Se constată 47 cromozomi, datorită cromozomului 21 excedentar și liber. Într-un mic număr de cazuri, cariotipul conține 46 cromozomi, dar cu o trisomie 21 datorită unei translocatii. Translocatia antrenează formarea unui neocromozom 21/13 sau 21/21. Copilul purtător al unei translocatii primește de la unul dintre părinți un cromozom anormal. Acest părinte este o persoană fenotipic normală, dar cu 45 de cromozomi. Are 2 cromozomi 13 și 2 cromozomi 21, dar unul din cei 2 cromozomi 2 este fixat pe unul 13, iar celălalt este liber. În timpul meiozei se pot petrece 4 posibilități, dacă mama este purtătoare de translocatie: un ovul va fi 13/21-21, un altul 13-21, un al treilea 13-0, iar al patrulea 13/21-0. Un spermatozoid normal 13-21 va fecunda la întâmplare unul din aceste ovule. Rezultatul va fi conform figurii XVI, 2.

Ovul	13-21	13-0	13/21-21	13/21-0
Spermatozoid	13-21	13-21	13-21	13-21
Produs de fecundație	13.13-21.21	13.13-21.0	13/21-13.21.21	13/21.13-21.0
Prognostic	Normal	Avort	Mongolian purtător de translocatie	Normal purtător de translocatie

Fig. XVI, 2. După Koulischer (29).

Dacă cifrăm rezultatele de mai sus o mamă normală care are o translocatie de tip 13-15/21 are o șansă din 4 de a avea un copil normal, o șansă din 4 de a avea un copil purtător de translocatie, o șansă din 4 de a avea un mongolian cu 46 de cromozomi și o șansă din 4 de a face un avort.

Previziunile teoretice nu se aplică decât la un mare număr de familii purtătoare a unei translocatii și este imposibil să se prevadă dacă primul, al doilea sau al treilea va fi un sindrom Down. Există totuși o excepție, translocatia

21/21. Celulele germinale ale părintelui purtător vor fi de două tipuri 21/21 și 0-0. Fecundat de un părinte normal, ele vor da fie un zigot mongolian 21/21/21, fie un avort datorită unei monosomii 21. În acest caz, toate nașterile vii vor da copii cu sindrom Down. Importanța citogenetice este deosebită pentru decelarea acestor cazuri.

În afară de cazurile tipice de trisomie 21, s-au descris și trisomii incomplete prin mozaicism (18, 40), a unui mozaic normal/trisomie 21. O atare situație am observat și noi la un copil de 3 ani și 10 luni (bolnavul F. A., F.O. nr. 1 824/1967), care a prezentat o retardare psihomotorie și modificări fenotipice care aminteau sindromul Down (fig. XVI, 3).

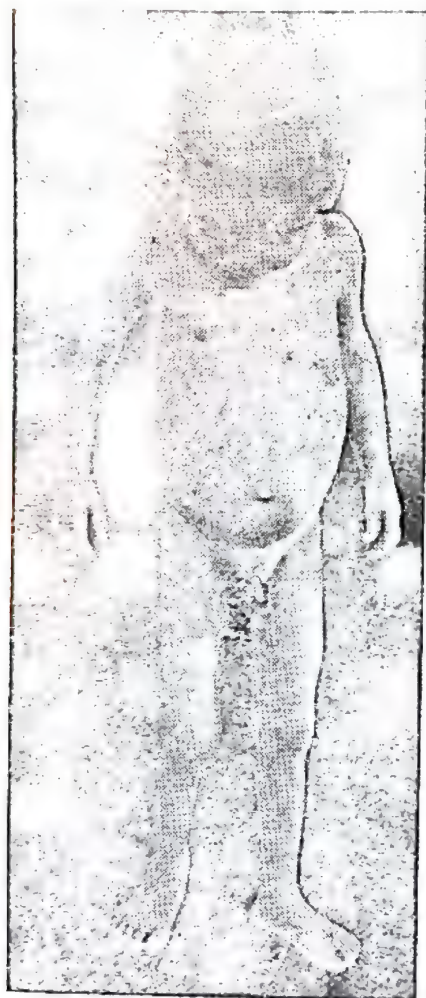


Fig. XVI, 3. Aspectul copilului F.A. (Obs. 1824/1967).

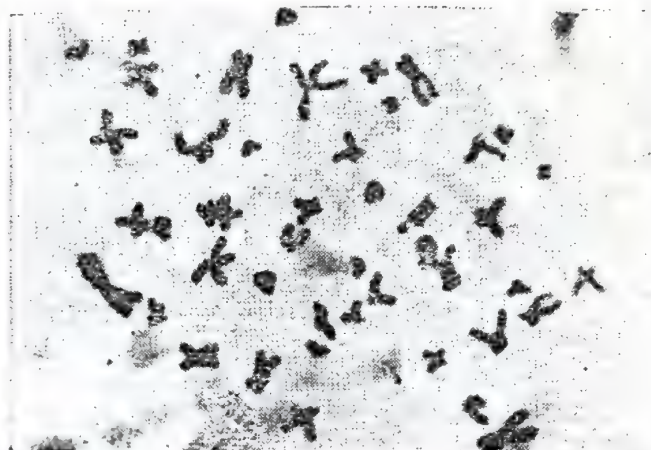


Fig. XVI, 4. Mitoze cu 47 de cromozomi (Metodă directă din măduva hematopoietică).

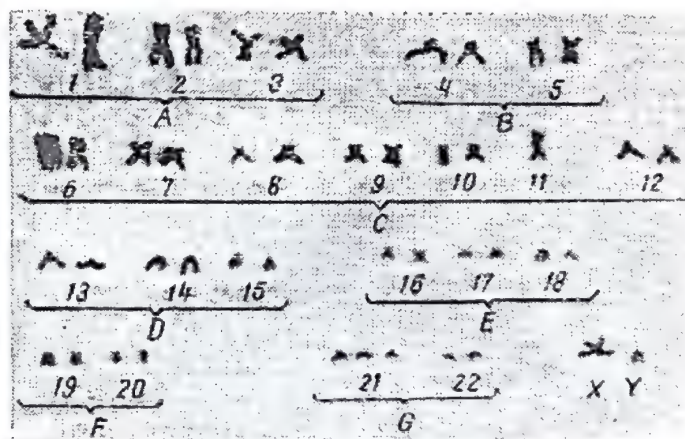


Fig. XVI, 5. Cariotipul celulei cu 47 de cromozomi, trisomia cromozomului 21.

Cariotipul efectuat direct din măduva sternală ne-a arătat la 10% din celule o trisomie 21, restul celulelor prezentînd un număr normal de cromozomi. Am considerat că este vorba de o trisomie incompletă prin mozaicism: mozaic normal/trisomie 21 (fig. XVI, 4 și fig. XVI, 5).

Trisomia 13 (sindrom Patau) (43) are o frecvență de 1 la 5 000 de nașteri vii. Este de 7—20 de ori mai rară decât trisomia 21 (33).

Modificări dismorfe: trisomia 13 este sugerată de coexistența gurii de lup, a buzei de iepure, cu microoftalmie și cardiopatie malformativă. În

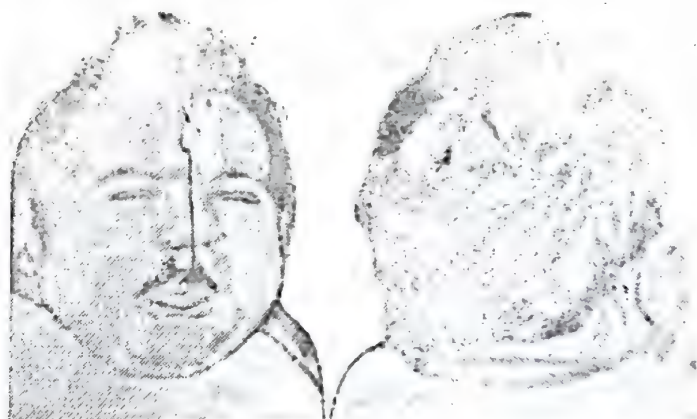


Fig. XVI, 6. Trisomie 13—15. Buză de iepure, nas turtit, urechi malformate și o arie cicatriceală pe creștetul capului [după M. Warburg (57)].

ansamblu, copilul este microcefal, regiunile frontale și temporale hipoplazice, cu ulceratii ale pielii capului în vertex, care se pot asocia cu lacune craniene subiacente. Anomaliile oftalmologice sînt foarte frecvente, constînd din microoftalmie, colobom irian, cataractă congenitală. Sub nasul lat și turtit, există uneori două buze de iepure (fig. XVI, 6).

Alteori, o aplazie a oaselor proprii ale masivului facial fără buză de iepure dă aspectul de cap de maimuță (cebocefalie). Urechile de obicei sînt malformate și implantate mai jos; există hexadactilie, picioare anormale, malformate „*pied en piolet*”. Se constată malformații viscerale, cardiace, urinare, genitale și ale aparatului digestiv, iar uneori malformații cerebrale (arhinencefalie).

Modificările dermatoglice constau din: pliu palmar transvers, augmentarea frecvenței arcurilor și buzelor radiale pe pulpa digitală, anomalii de poziție a liniilor principale, frecvența mare a figurilor tenariene și interdigitale.

Boala este extrem de gravă, dezvoltarea psihomotorie este nulă, copilul este hipoton, fără reflexe arhaice, cu crize convulsive, cu accese de apnee. Vîrsta în general nu depășește 2 luni.

Cariotipul. În 87% din cazuri arată o trisomie 13 (fig. XVI, 7).

Se cunosc și cazuri de trisomii prin translocatie sau fuziune centromerică de tip D/D, între acrocentricii mari, sau trisomii incomplete cu mozaicism.

Trisomia 18 (sindrom Edwards) (14). Este o entitate clinică bine definită al cărei diagnostic se dovedește relativ ușor. Frecvența este de 1/3 500. Media de supraviețuire este de 4—5 luni. Dezvoltarea neuropsihică și somatică este aproape nulă. Se pare că este mai frecventă la fete.

Modificări dismorfe: craniul este mic, cu proeminența occipitalului, urechi malformate și jos implantate, hipoplazie mandibulară, micro- și retrog-

nație, uneori complicată cu glosoptoză, dînd aspectul de sindrom Pierre Robin. Gîtul este scurt, sternul foarte scurt, ceea ce dă toracelui un aspect mic în raport cu abdomenul. Bazinul este îngust. Extremitățile au anomalii tipice: degetele în flexiune marcată, indexul acoperind mediusul și auricularul inelarul. Sindactilia poate fi prezentă. Articulațiile au mișcări limitate. În unele cazuri se pot găsi artrogripoze multiple.

Copiii aceștia sînt hipotrofici, prezintă o creștere foarte lentă, o retardare motorie și a maturării osoase, tulburări neuropsihice marcate; lipsesc reflexele de sugere și de deglutiție. Se constată de asemenea malformații viscerale, cardiace, renouretrale. Dermatoglifile pun în evidență degete purtătoare de arcuri și înlocuirea a două pliuri palmare orizontale printr-un pli transvers unic, asemănător celui din trisomia 21.

Cariotipul. Majoritatea trisomiilor 18 sînt libere. Sînt rare cazuri de trisomie 18 prin malsegregarea unei translocatii parentale. Există și forme parțiale și forme în mozaic.

Trisomia 22 pare să fie o anomalie rară; de obicei acești copii sînt polimalformați și decedează rapid (30).

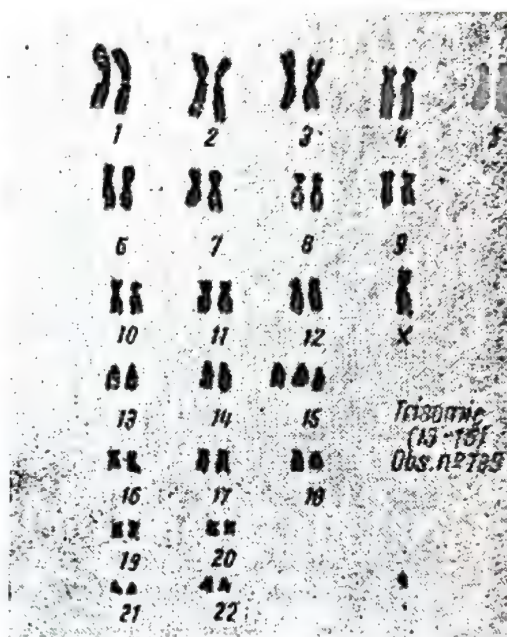


Fig. XVI, 7. Trisomie 13—15 [după Saraux și colab. (46)].

DELEȚIILE

Se desemnează în mod obișnuit sub termenul de deleție pierderea unui segment cromozomial. Delețiile autozomice pot fi recunoscute prin observarea unui element anormal al cărui braț este mai mic decît omologul său. Două deleții terminale pe un același cromozom pot duce la realipirea celor două părți proximale și la formarea unui cromozom în inel. Delețiile pot fi produse experimental prin numeroși agenți, mai ales prin radiații ionizante. Este greu în patologia umană constituțională de a găsi un factor precis la originea remanierilor cromozomiale.

În patologia umană s-au descris următoarele deleții compatibile cu supraviețuirea:

- deleția brațului scurt al cromozomului 5 (5 p-); provoacă boala „*Cri du chat*“;
- deleția brațului scurt al cromozomului 4 (4 p-);
- deleția brațului lung al cromozomului 18 (18 q-);
- deleția brațului scurt al cromozomului 18 (18 p-).

S-a descris (23) sub semn de întrebare și un caz de deleție a brațului scurt al cromozomului 6 (6 p-).

Prin autohistoradiografie s-a putut constata că cea mai mare parte a delețiilor cunoscute corespunde zonelor unde sinteza ADN este tardivă, ceea ce

ar implica o relativă inactivitate genică. Delețiile fragmentelor active ar fi neviabile.

Boala „Cri du chat” (deleția brațului scurt al cromozomului 5), descrisă în 1963 de J. Lejeune și colab. (35), pare să fie cea mai frecventă dintre bolile legate de o deleție autozomică. Frecvența a fost apreciată de 0,2 la 10 000 de nașteri vii (2). S-a constatat că sexul feminin este mai frecvent atins. Media de supraviețuire este de 20—22 de luni, dar s-au comunicat și cazuri cu supraviețuire mai lungă.

Modificările dismorfice constau din hipertelorism cu epicant, adesea strabism, bosă metopică, implantare mai joasă a urechilor, față rotunjită, mandibulă mică cu hipoplazia gonionului, fante palpebrale oblice în jos și în afară, microcefalie notabilă (fig. XVI, 8).

Retardarea psihomotorie este marcată, copilul prezintă un strigăt de tonalitate plângătoare și de timbru acut, evocând un plîns de pisică tînă. Anomaliiile responsabile de acest strigăt constau din laringe mic, pliuri aritenoido-epiglotice moi, cu epiglotă mică care basculează la fiecare mișcare inspiratorie. Se constată malformații cardiace la 1/4 din cazuri.

Dermatoglifele sînt anormale, se constată un pliu palmar transvers, în alte cazuri pliul de flexiune distal este rectiliniu și se oprește la baza celui



Fig. XVI, 8. Aspectul copilului cu deleție parțială a brațului scurt al cromozomului 5 [după Lejeune și colab. (35)].

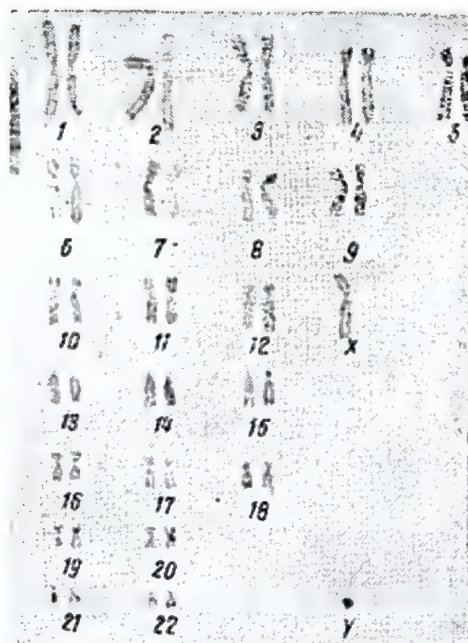


Fig. XVI, 9. Cariotipul deleției parțiale a brațului scurt al cromozomului 5 [după Lejeune și colab. (35)].

de-al treilea deget, în timp ce la subiectul normal merge pînă la spațiul al II-lea interdigital.

Cariotipul arată un cromozom 5 care a pierdut o parte variabilă a brațului său scurt (fig. XVI, 9).

În familie, riscul de a avea un copil atins de boală este de 1/4, iar în 1/4 din cazuri se va naște un copil trisomic pentru porțiunea 5 pierdută.

Această eventualitate realizează contratipul bolii și se asociază cu o debilitate mintală gravă.

Deleția brațului scurt al cromozomului 4 se caracterizează prin hipertelorism, defect de sudare mediană a formațiunilor embrionare ale feței, fantă palatină, buză de iepure, asimetria figurii și a craniului, colobom irian, aso-



Fig. XVI, 10. Aspectul copilului cu sindrom Hallermann-Streiff-François [după Walbaum și colab. (56)].



Fig. XVI, 11. Aspectul copilului cu deleție parțială a brațului lung al cromozomului 18 [după Lejeune și colab. (38)].

ciate cu malformații cardiace, genitale și nervoase. Recent, în discefalia cu aspect de cap de pasăre, cu microoftalmie și cataractă congenitală, cunoscută sub denumirea de sindrom Hallermann-Streiff-François, P. Jalbert și colab. (26) găsesc o deleție a brațului scurt al cromozomului 4 (fig. XVI, 10).

Cariotipul arată deleția brațului scurt al cromozomului 4, care a putut fi pusă în evidență prin metode autoradiografice cu timidină tritiată.

Deleția brațului lung al cromozomului 18. Copiii prezintă microcefalie, retraction etajului mijlociu al feței contrastând cu o bărbie normală. Mai prezintă hipertelorism, cu sau fără epicant, hipoplazia părții interne a marginii orbitei superioare, o gură cu buză superioară arcuită (fig. XVI, 11).

Se constată întârziere mintală cu hipotonie musculară și hipotrofie somatică. Malformațiile organelor genitale și ale aparatului digestiv se pot coasocia.

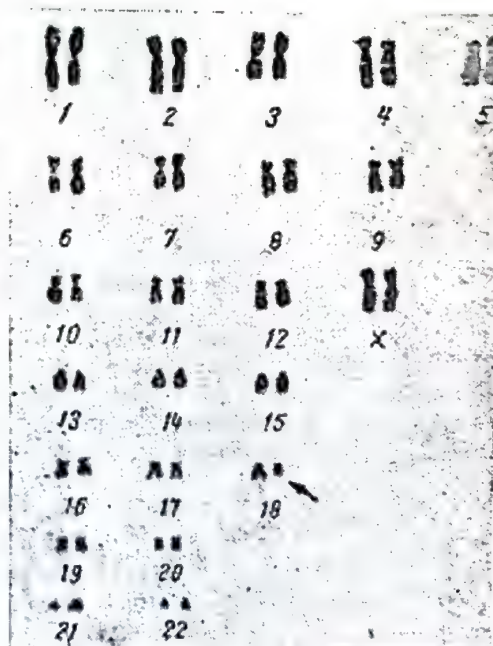


Fig. XVI, 12. Cariotip cu deleție parțială a brațului lung al cromozomului 18 [după Lejeune și colab. (38)].

Cariotipul arată pierderea jumătății din brațul lung al cromozomului 18 (fig. XVI, 12).

Deleția brațului scurt al cromozomului 18. Subiecții atinși de această boală prezintă o retardare neuropsihică notabilă, retardare staturo-ponderală, anomalii oculare (epicant, cataractă, ptoză palpebrală), gură cu colțurile lăsate în jos.

Un moment demn de amintit, care a contribuit la o mai bună cunoaștere a complexității bolilor cromozomiale, este anul 1965, când J. Lejeune (36) vorbește pentru prima dată de: *maladie du „Cri du chat“ et sa réciproque*, subliniind că în patologia cromozomială se poate sistematiza un tip și un contratip al bolilor cromozomiale. Aceste două sindroame reciproce, de deleție pe de o parte, și de triplicare pe de altă parte, au permis să se imagineze faptul că delețiile realizează anomalii care sînt contratipurile trisomiilor. În analiza pe care autorul o face, arată că trisomiei 21 îi corespunde monosomia parțială 21, trisomiei 18 ca tip îi corespunde ca contra tip deleția parțială a brațului lung al cromozomului 18 (fig. XVI, 13).

TIP ȘI CONTRATIP (LEJEUNE)

<i>Trisomie 21</i>	<i>Copil Haplo 21</i>
Hipotone	Hipertonie
Aplazia nasului	Proeminența nasului
Epicant	Hipocant extern
Pete Bruschfield	Permanentă membr. pupil.
Hiper-gama globulin	Hipo-gama globulinemie
Hipoeozinofilie	Hipereozinofilie
Raport $\frac{5 \text{ HIAA}}{\text{kinurenina}}$ dimin.	Crescut
Fosfatoza alcalină	Scăzută
Crescută	
<i>Trisomie 18</i>	<i>Deleție 18</i>
Nas fin bine dezvoltat	Retracția reg. nazale
Microretrognatie	Menton proeminent
Fosetă scafoidă lărgită	Fosetă scafoidă profundă
Ureche de faun	
Helix abia tivit	Helix foarte tivit
Bazin îngust	Hiperabducția coapselor
Degete scurte al II-lea și al V-lea călărind pe al III-lea și al IV-lea	Degete fuzelate
Frecv. crescută a arcurilor	Frecv. crescută a vertebrelor

Fig. XVI, 13. După Lejeune (39).

Comparația între tip și contratip este de dublu interes; opoziția semnelor clinice ne permite să determinăm în care sens un exces sau un defect al unui cromozom dat face să varieze fenotipul și în al doilea rînd, deschide calea de cercetare în genetică.

Este de remarcat că această utilizare a noțiunii de tip și contratip nu se limitează numai la accidentele constituționale, ci are un sens mai larg. Astfel,

de exemplu, deleția parțială a cromozomului 21 realizează un fenotip celular nou, acela al leucemiei meiloide cronice. Această boală este contratipul afecțiunilor maligne de care sufer trisomicii 21. Se știe că trisomicii 21 fac de 20 de ori mai frecvent leucemii decât copiii normali (48), dar ei sînt atinși de leucoze limfoide acute, niciodată de leucemie mieloidă cronică. Se poate constata deci că acest tip de analiză deschide o perspectivă nouă asupra mecanismului chiar al oncogenezei; de asemenea deschide drum cercetărilor asupra tulburărilor metabolice legate de aceste procese.

Cunoașterea tulburărilor metabolice va duce la posibilitatea încetării printr-un metabolit a reacțiilor enzimatiche sau chiar la remedierea metabolismului deficient. Așa cum afirmă J. Lejeune, lucrul acesta rămîne deocamdată doar o pură speculație, dar este singura speranță de a putea modifica într-o zi destinul acestor copii pe care o eroare a mecanicii cromozomiale îi condamnă.

După cum a reieșit din clasificarea prezentată sînt posibile și alte tipuri de anomalii cromozomiale (de exemplu, apariția cromozomilor în incl). Este

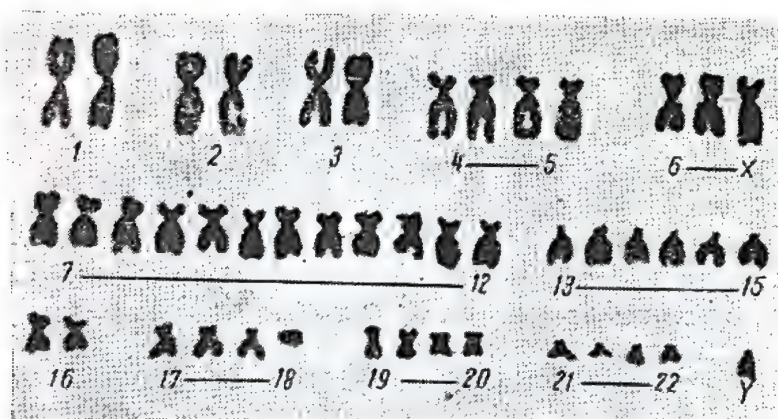


Fig. XVI, 14. Cariotip cu cromozom 18 în incl (cazul 1) [după Feingold și colab. (17)].

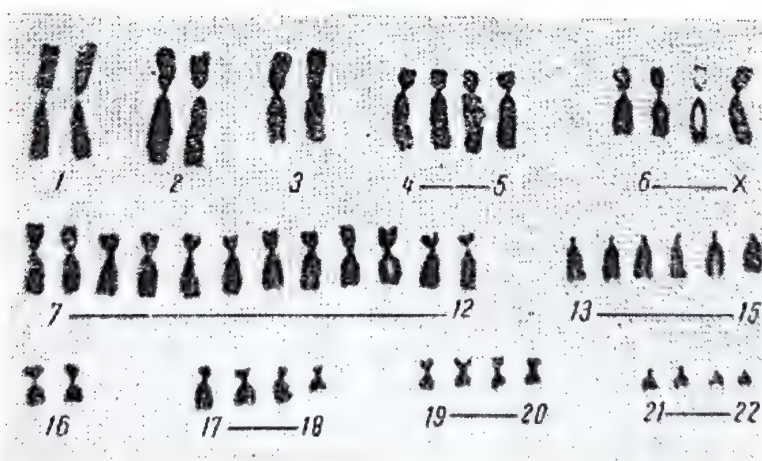


Fig. XVI, 15. Cariotip cu deleția brațului lung al cromozomului 18 (cazul al II-lea) [după Feingold și colab. (17)].

de menționat că semiologia fiecărei grupe de cromozom în inel se suprapune cu cea a cazurilor de deleție a aceluiași cromozom.

Este de subliniat că P. S. Gerald și colab. (19), în legătură cu un cromozom D în inel, asociat cu o ahaptoglobinemie, emite ipoteza că locusul genei structurale a haptoglobinei, ar fi situat pe brațul lung sau brațul scurt al cromozomului D. Bloom (5) prezintă de asemenea date evidente în legătură cu locusul de control al formării lanțului alfa al haptoglobinei, localizat pe cromozomul 13. Pe aceeași linie importantă de cercetare, care tinde să precizeze locusurile de autozomi, a unor trăsături genetice, se înscriu și observațiile lui Feingold și colab. (17), care în legătură cu 2 cazuri, unul cu cromozom 18 în inel, celălalt cu o deleție parțială a brațului lung al aceluiași cromozom, găsește o disgamaglobulinemie, o deficiență a serumglobulinelor IgA. (Fig. nr. XVI 14, XVI 15).

*

Deși în ultimii ani, genetica s-a dezvoltat într-un ritm rapid, profilaxia bolilor cromozomiale este limitată ca eficacitate, constituind un domeniu în care rămân multe de realizat prin studii clinice, epidemiologice și citogenetice.

O problemă delicată este stabilirea prognosticului genetic și acordarea sfatului genetic părinților unor copii afectați de atare boli. După Klein (28), la acordarea sfatului genetic trebuie să se țină cont că riscul pentru mamele care au avut un copil trisomic, de a avea din nou un copil atins, trebuie evaluat la 10% între 40—44 de ani și la 2—3% după vârsta de 45 de ani. La mamele tinere riscul este mult mai mare. De aici se impune necesitatea determinării cariotipului acestora pentru a decela modificările cromozomiale existente. În prezența unei translocării în general de tip 13/21 la mamă, probabilitatea unei atingeri la un alt copil este de 25—33%. Dacă tatăl e purtător de translocatie, riscul este numai de 5%. La translocatia 21/21, toți copiii vor fi trisomici. În caz că un părinte are un mozaicism de tip trisomic, riscul de a avea un nou copil trisomic nu poate fi calculat pentru moment, dar trebuie să fie considerat cam 5—10%. Cu toate aceste calcule ale probabilității bazate pe investigații genetice și statistice, prognosticul ereditar al acestor boli rămâne o problemă delicată. Geneticianul trebuie să aibă o experiență personală care să-i permită să interpreteze corect datele din literatură și totodată să țină cont că nu totdeauna legile statistice pot fi aplicate rigid, la o populație așa de mică, cum este familia.

Considerăm de o mare importanță pentru profilaxia aberațiilor cromozomiale, observațiile lui Turpin și Caratzali (54), care au arătat, că unele caractere fenotipice ale trisomiei 21 (limbă plicaturată, glosită exfoliatrice marginală, epicant, pliu palmar transvers, heterotopia arterei radiale), pot fi găsite la ascendenții și colateralii trisomicilor 21, aparent normali.

În consecință credem că ar fi important să se caute și aceste semne în cadrul consultațiilor prenuptiale și să se efectueze cariotipul subiecților purtători ai unor atare stigmat.

Nu ne vom mai referi la o gamă întreagă de factori de mediu (radiații ionizante, substanțe chimice, medicamentoase), care putând produce modificări cromozomiale, trebuie înlăturați (9, 10, 15, 16, 42).

Departe de a fi putut atinge complexitatea aspectelor legate de patologia anomaliilor cromozomiale, credem că este evident că citogenetica nu și-a spus ultimul cuvânt în patologia infantilă. Să nu ne referim decât la faptul că în unele sindroame cu modificări cromozomiale (cum ar fi sindromul Bloom, anemia Fanconi, sindromul Down), se observă o mare incidență neoplazică (48). Se pune problema în ce măsură fragilizarea materialului nuclear poate să intervină favorizând acțiunea agenților oncogeni. De altfel Todaro și colab. (51) au arătat afinitatea electivă a virusului oncogen SV 40 pentru fibroblaștii proveniți de la bolnavii atinși de anemie Fanconi.

Sîntem convinși că prin folosirea și perfecționarea metodelor de citogenetică, pe lângă precizarea originii sindroamelor dismorfice se va putea ajunge la explicația măcar a unei verigi din lanțul complicat al oncogenezei. Deocamdată, citogenetica aplicată la perioada copilăriei sugerează relații patogenice comune între anomaliile cromozomiale congenitale și cele dobîndite și lasă pe viitor poarta deschisă lămuririi conexiunilor acestor anomalii cu procesele de oncogeneză.

BIBLIOGRAFIE

1. Berger R. — *Sem. Hôp. Paris*, 1966, 26, 19, 1 204.
2. Berger R. — *Gaz., m'éd. Fr.*, 1968, 75, 5, 949.
3. Bernard R., Stahl A., Giraud F., Hartung M., Brusqu et J. — *Sem. Hôp. Paris.*, 1966, 36/37—8.9, 525.
4. Bloom D. — *J. Pédiat.*, 1966, 68, 103.
5. Bloom G. E., Gerald P. S., Reisman I. E. — *Science*, 1967, 156, 1 746.
6. Book J. A., Santesson B. — *Lancet*, 1960, 1, 858.
7. Bugarin O. — *Pediatrics (Buc.)*, 1967, 1, 39.
8. Caratzali A., Nachtigal S., Cîrnu L. — *Cercet. Genet.*, 1965, 663.
9. Caratzali A., Ștefănescu D. T., Popescu H. I. — *Presse méd.*, 1967, 75, 32, 1 637.
10. Caratzali A., Roman C. I. — *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1969, 268, Seria D 191.
11. Carter C. O., Evans K. A. — *Lancet*, 1961, 2, 7206, 785.
12. Constantinescu C., Diculescu G. — *Pediatrics (Buc.)*, 1966, 6, 497.
13. Copen A., Cowie V. — *Brit. méd. J.*, 1960, 5 189, 1 843.
14. Edwards J. H., Harnden D. J., Cameron A. H., Crosse M. V., Wolff O. H. — *Lancet*, 1960, 1, 787.
15. Engel E., Haddow J. E. — *Amer J. Dis. Child.*, 1967, 113, 6, 322.
16. Evans E. — *Nature (Lond.)*, 1967, 214, 5 086, 361.
17. Feingold M., Schwartz R., Atkins L., Anderson R., Bartso-cas C., Page D., Littlefield J. — *Amer. J. Dis. Child.*, 1969, 117, 2, 129.
18. Gelderen Van H. H., Gaillard J. L., Schaberg A. — *Acta paediat-stand.*, 1967, 56, 517.
19. Gerald P. S., Warner S., Singer J. D., Corcoran P. A. Uman-sky J. — *J. Pédiat.*, 1967, 70, 172.
20. Geormăneanu M., Răiciulescu M., Dinescu D. — *Pediatrics (Buc.)*, 1969, 1, 1.
21. Germain D., Requin Ch., Robert J., Viala J. J., Freycon F., Gaja M. A. — *Pédiatrie*, 1968, 2, 166.
22. Grouchy de J., Lamy M., Thieffry St., Arthuis M., Salmon C. — *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1963, 256, 1 028.
23. Grouchy de J., Veslog J., Bonette J., Raidot M. — *Amer. J Dis. Child.*, 1968, 115, 1, 93.

24. Hayward M. D., Bower B. O. — *Lancet*, 1960, 2, 844.
25. Jalbert P., Lagier A., Gachon J. — *Pédiatrie*, 1967, 8, 963.
26. Jalbert P., Gilbert J., Leopold Ph., Mouriquad Cl. — *Pédiatrie*, 1968, 6, 703.
27. Junis J. J. — *Human Chromosome Methodology*, Acad. Press, New York, 1965.
28. Klein D. — *Päd. Fortbildungskurse, moderne genetische probleme*, vol. 16, Ed. S. Karger, Basel, New York, 1966, p. 41.
29. Koulischer L. — *Rev. Méd. (Bruxelles)*, 1964, 20, 3.
30. Koulischer L., Kulakovski A., Malherbe O. — *Arch. franç. Pédiat.*, 1967, 7, 839.
31. Kulakowski S., Koulischer L., Merken J. — *Arch. franç. Pédiat.*, 1966, 1, 47.
32. Lafourcade J., Lejeune J., Berger R., Rethoré M. O., Archambault I. — *Ann. Pédiat.*, 1965, 41, 1, 24.
33. Lafourcade J. — *Gaz. Méd. Fr.*, 1968, 75, 5, 931.
34. Lejeune J., Delthil P., Berger R. — *Arch. franç. Pédiat.*, 1963, 6, 737.
35. Lejeune J., Lafourcade J., De Grouchy J., Berger R., M. Gauthier, Salmon Ch., Turpin R. — *Sem. Hôp. Paris*, 1964, 18/4, 1069.
36. Lejeune J., Lafourcade J., Berger R., Rethore M. O. — *Ann. Génét.*, 1965, 8, 11.
37. Lejeune J., Berger R., Rethoré M. O., Salmon C. — *Ann. Génét.*, 1966, 9, 1, 12.
38. Lejeune J., Berger R., Lafourcade J., Réthoré M. O. — *Ann. Génét.*, 1966, 9, 1, 32.
39. Lejeune J. — *Types et contratypes, Journées parisiennes de pédiatrie*, Ed. Falm-Marion, Paris, 1966.
40. Maximilian C., Ionescu B., Ciovirnache M. — *Stud. Cercet. Embriol. Citol.*, 1966, V, 3, 2, 118.
41. Milcu Șt., M. Maximilian C. — *Genetica umană*, Ed. științifică, București, 1966.
42. Nielsen J., Friedrich W., Tsuboi T. — *Brit. med. J.*, 1969, 3, 5 671, 634.
43. Patan K., Smith D. W., Therman E., Inghorn S. L., Wagner H.P. — *Lancet*, 1960, 1, 7 970.
44. Rauch J., Soukup S. W. — *Amer. J. Dis. Child.*, 1968, 116, 4, 409.
45. Sabatini R., Vaillaud J. C., Dutrage J., Laurent C., Sarrouy Ch. — *Sem. Hôp. Paris*, 1966, 36—37, 26, 436.
46. Sarau H., Lafourcade J., Lejeune J., Dherny P., Cruveiller J., Turpin R. — *Arch. Ophthal, Paris*, 1964, 24, 7, 581.
47. Smith D. W. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1964, 90, 1 055.
48. Stewart A., Welb J., Herwitt D. — *Brit. med. J.*, 1958, 1, 1 495.
49. Thompson H. — *Pediatrics*, 1965, 140, 718.
50. Tjio J. A., Levan A. — *Hereditas*, 1956, 42, 1, 6.
51. Todaro G. I., Green H., Swift M. R. — *Science*, 1966, 153, 1 252.
52. Trubovitz S., Kirman D., Masek B. — *Lancet*, 1962, 2, 486.
53. Turpin R., Lejeune J. — *Les chromosomes humains*, Ed. Gauthier Villars, Paris, 1965.
54. Turpin R. — *Päd. Fortbildungskurse*, vol. 16, Ed. S. Karger, Basel-New York, 1966.
55. Vasela F., Joss E., Luchsinger R., Dupois C., Gloor R., Wiesemann M. — *Helv. Paediat. Acta*, 1967, 22, 1, 13.
56. Walbaum R., Voillez M., François P., Mayolle Ph. — *Pédiat. Lyon*, 1968, 7, 782.
57. Warburg M., Mikkelsen M. — *Acta ophthal (Kbh.)*, 1963, 41, 321.

BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI UNELE ASPECTE ALE GREFELOR ȘI TRANSPLANTĂRILOR

Ed. Neumann

CONSIDERAȚII INTRODUCATIVE

Practica clinică impune destul de frecvent realizarea unor transplante de țesuturi sau organe. Pentru claritatea expunerii trebuie să definim trei noțiuni: *autoplastia* este transplantarea țesuturilor sau organelor recoltate de la același organism; *homoplastia* este transplantare de la un animal de aceeași specie; *heteroplastia* este transplantarea de la un animal de specie diferită.

Oricare ar fi felul transplantului, porțiunea transplantată își pierde inițial toate formele de legături cu organismul și necesită refacerea cât mai rapid posibilă a acestor legături. În porțiunea transplantată se distrug circulația, inervația, funcțiile organului transplantat și procesele complexe de interacțiune cu alte părți ale corpului.

Rezultatul transplantării este dependent de rapiditatea și de modul complet de refacere în transplant a legăturilor, mai sus-amintite cu receptorul. Aproape toate țesuturile care în condiții obișnuite sînt slab sau de loc irigate își pot păstra viața un interval de timp relativ scurt.

Restabilirea circulației în transplant se obține pe două căi: în primul rînd prin anastomozarea vaselor sanguine ale transplantului și receptorului și în al doilea rînd prin înmugurirea în transplant a vaselor sanguine provenite de la receptor (fig. XVII, 1 și fig. XVII, 2).

Atît în prima, cît și în a doua formă de restabilire a circulației, cercetătorii s-au izbit și se mai izbesc încă de multe dificultăți.

Vasele sanguine în transplant cresc relativ încet și pînă la creșterea lor transplantul se hrănește pe seama organismului receptor numai pe calea difuziunii și osmozei. În acest caz, vitalitatea transplantului se poate menține numai în cazul unor dimensiuni relativ reduse.

În cazul transplantării unor organe mari, chiar dacă astăzi problema anastomozelor vasculare este tehnic destul de bine pusă la punct, la locul suturii apar destul de frecvent tromboze care compromit vitalitatea ulterioară a transplantului.

Lipsa sau insuficiența inervației depline a transplantului are repercusiuni mai puțin grave decît lipsa circulației. Mecanismele umorale de reglare pot

suplă lipsa reglării nervoase. În cazurile de transplantare renală reușite, aproape toată viața rinichiul transplantat va funcționa numai pe baza unei reglări umorale.

Dacă ne referim la schimburile metabolice care se realizează între transplant și organismul receptor, ne izbirăm de probleme mult mai complexe. Dacă este vorba de o autoplastie nu există probleme spinoase. Ele apar în cazul ho-



Fig. XVII, 1. Imaginea capilaroscopică a pielii normale (după A. Castermans).

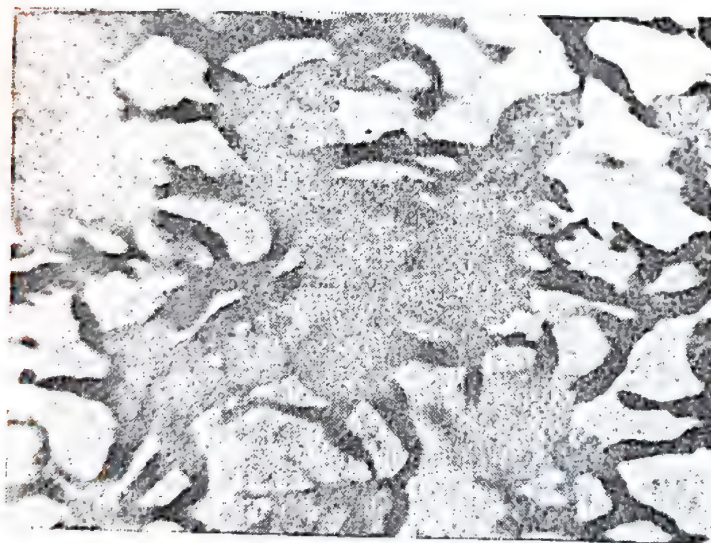


Fig. XVII, 2. Imaginea capilaroscopică a unei homogrefe cutanate cu reacție de rejetare, în ziua a 7-a după transplantare (după A. Castermans).

moplastiilor și mai ales a heteroplastiilor. De fapt, în majoritatea cazurilor apare un conflict între transplant și receptor, care poate duce la moartea unuia sau altuia.

Acest conflict între transplant și receptor nu apare în toate formele de homoplastie. El este inexistent dacă donatorul și receptorul sînt gemeni uni-vitelini. La fel la animalele singenice, supraviețuirea homotransplantului este un caz obișnuit. La animalele neînrudite, dacă transplantul se realizează între

membrii aceleiași familii, după cum a arătat Schone (1916) și Musina (1956), o parte din animale prind homotransplantele.

În rezumat, acolo unde baza ereditară a homotransplantului și receptorului este identică nu apare conflict între ei în cursul transplantării. Aceste date demonstrează că la baza conflictului între homotransplant și receptor se află deosebirile fondului ereditar. Baza ereditară a receptorului condiționează un anumit tip de dezvoltare a metabolismului tisular, iar baza ereditară a transplantului determină un alt tip de metabolism. Acesta este fondul pe care se greșează conflictul între receptor și homotransplant.

Se manifestă deci și în cazul homotransplantării efectele unei legi biologice mai generale, aceea a conservatorismului ereditar.

Cu fenomene analoge conflictului între transplant și receptor în natură ne întâlnim relativ des. De exemplu, în cazul infecției organismului se manifestă conservatorismul ereditar atât al macroorganismului, cât și al microorganismului. Microorganismul trăind în aceste condiții își păstrează tipul metabolic specific, utilizând macroorganismul ca sursă de hrană și în același timp eliminând în macroorganism metaboliți specifici.

Macroorganismul își păstrează tipul său metabolic și substanțele pe care microbiile le elimină în el sînt străine, antigenice, la care el va răspunde printr-o reacție imună: în sângele macroorganismului apar anticorpi, iar în unele zone ale organismului se activează anumite celule (reticulohistiocitare). Cu ajutorul anticorpilor și a celulelor special activate, macroorganismul tinde să se debaraseze atât de metaboliții microbieni, cât și de microbiile însăși, creînd condiții incompatibile vieții acestora.

Rezultatul interacțiunii complexe dintre macro- și microorganism poate fi diferit. În unele cazuri, macroorganismul păstrîndu-și tipul metabolic propriu determină moartea microorganismelor, iar în alte cazuri, microorganismul determină asemenea perturbări în macroorganism încît acestea duc la moartea macroorganismului.

Ca o soluție de compromis atât macroorganismul, cât și microorganismul pot suferi fenomene de adaptare și în felul acesta se asigură coexistența lor.

Relațiile macroorganismului cu microorganismele sînt identice cu relațiile apărute în cursul homoplastiei (Medawar, 1946).

Homotransplantul avînd alt fond ereditar decît receptorul tinde să-și păstreze tipul metabolic și elimină în receptor substanțe străine pentru acesta, care se comportă ca antigen. Sistemul imunogenetic al receptorului răspunde la aceste antigene printr-o reacție imună. Anticorpii și celulele imunologic competente ale receptorului duc la moartea homotransplantului. Cu alte cuvinte, datorită diferențelor antigenice existente între receptor și transplant, se creează ceea ce se numește o incompatibilitate de transplantare sau cu un alt termen de histoincompatibilitate. Histoincompatibilitatea duce totdeauna la rejetarea mai rapidă sau mai tardivă a transplantului. Fenomenul de rejecție, dacă este să-l încadrăm în cadrul mare al procesului imun, este doar manifestarea particulară a așa-numitei hipersensibilități de tip întîrziat, prezentînd toate caracterile citologice, imunologice, histochimice și biochimice ale alergiei de tip tuberculinic. În baza acestei asemănări, în literatura ultimilor ani în loc să se

vorbească, în cazul incompatibilității de transplantare, de imunitate de transplantare se utilizează, poate mai adecvat, termenul de alergie de transplantare. Credem că însuși fenomenul reacției secundare, care este prezent atât în hipersensibilitatea întârziată de tip tuberculinic, cât și în rejetarea mai accelerată a unui al doilea transplant făcut după o primă rejetare justifică din plin termenul de alergie de transplantare.

Practic vorbind, în determinismul compatibilității tisulare, în vederea reușitei unei transplantări de organ sau țesut, rolul fundamental îl joacă structura antigenică a transplantului și receptorului. Or, această structură antigenică este determinată genetic și manifestările condițiilor genetice particulare în cazul transplantării vor depinde de așa-numitele antigene de transplantare.

Progresele realizate în imunogenetică au împins înainte rezultatele cercetărilor în domeniul transplantării.

Bazele genetice ale transplantării au fost puse în 1914 de către Litle, cu toate că cercetări sporadice au fost făcute chiar înaintea acestui autor. Astfel, Loeb, la începutul secolului a stabilit că tumoarea spontană a șoarecelui japonez poate fi transplantată la toți indivizii aparținând aceleiași linii, dar greșele tumorale nu prind în cazul transplantărilor la indivizii din altă linie. Mai târziu Tyzzer a observat că posibilitatea de prindere a transplantului se moștenește, însă nu după legile mendeliene. De fapt, această capacitate există la toți indivizii din generația F_1 , în schimb dispare aproape complet în generația F_2 . Litle a arătat însă că, dacă avem în vedere nu o pereche de gene, ci 14—15 gene, atunci rezultatele lui Tyzzer pot fi încadrate foarte bine în legile mendeliene.

LOCUSURILE H

Cifra 14 amintită înainte este și astăzi valabilă. Se pare că la șoarece, compatibilitatea este determinată de 14—15 locusuri. Cu alte cuvinte, acesta este numărul de locusuri care ar trebui să fie concordante pentru supraviețuirea transplantului. Realitatea este însă că aceste locusuri au proprietăți fiziologice diferite și pînă în prezent nu s-a putut demonstra cu certitudine existența fiecărui locus. Sigură este prezența locusurilor H_{1-11} . Din punctul de vedere al reușitei transplantului, numai 4 din aceste locusuri sînt definitorii (H_1 , H_2 , H_3 și H_4), dintre care rolul preponderent îl joacă locusul H_2 . Dacă diferența între donator și receptor se află la nivelul locusului H_2 , atunci durata de supraviețuire a transplantului nu depășește 10—12 zile. Diferențele la nivelul locusurilor H_1 și H_3 duc la o supraviețuire de 90 de zile, iar discordanța la nivelul locusului H_4 poate asigura o supraviețuire a transplantului de lungă durată.

Locusurile H reprezintă de fapt determinanții histocompatibilității. Care este semnificația lor? Aceste locusuri controlează sinteza unor proteine cu caracter antigenic, deci dacă există diferențe între aceste locusuri, apar și diferențe în structura antigenelor controlate de ele. Durata de viață a transplantului se găsește în corelație pozitivă cu relația genetică dintre donator și receptor, care se manifestă prin diferențe antigenice tisulare, iar pe planul individului, prin specificitate biologică.

ANTIGENELE DE TRANSPLANTARE

Literatura clasică a transplantării deosebește două antigene: H (care condiționează formarea anticorpilor umorali) și T (de transplantare).

Antigenul H este legat de anumite structuri ale membranelor. El a putut fi pus în evidență în membrana celulară, în sistemul lamelar intracelular, în fracțiunea lizozomală, în microzomi. După alte cercetări, activitatea antigenului H se găsește în proporție de 50% în nucleu. El este probabil de natură fosfolipidică, iar grupările determinante sînt date de aminopolizaharide.

Antigenul T este de natură nucleoproteinică și evidențierea lui, la ora actuală, se face exclusiv prin metode biologice. De fapt, antigenul T ar răspunde de imunitatea de transplantare și de reacțiile de hipersensibilitate de tip întârziat.

În literatura ultimilor ani se conturează tendința de a nu separa antigenele de transplantare în antigene H și T. Probabil este vorba de un singur antigen și separarea anterioară a fost rodul unor artefacte tehnice.

EVOLUȚIA IMUNITĂȚII DE TRANSPLANTARE

A. FILOGENEZA IMUNITĂȚII DE TRANSPLANTARE

Philips și Yardley au arătat că dacă se injectează serum-albumină de bou la celenterate, de la care după un anumit interval de timp se fac extracte, se obțin substanțe care inhibează antigenul și formarea anticorpilor la iepurii injectați cu aceste antigene. Se poate presupune că deja la celenterate ar fi prezente unele substanțe cu caracter de anticorpi. Totuși la celenterate nu s-a putut pune în evidență reacții de incompatibilitate tisulară, transplantele prind bine și cresc. La vertebrate, situația se schimbă întrucîtva, deoarece la vertebratele inferioare, cum sînt amfibienii, în faza în care premerge metamorfoza, se pot efectua cu succes atît homotransplantări, cît și heterotransplantări. După terminarea metamorfozei se manifestă, întocmai ca la mamifere, fenomene de incompatibilitate tisulară, mai mult și reacția secundară se desfășoară din plin. Hildemann și Haas au pus în evidență la teleosteeni rejecția primară la 7,2—7,5 zile, iar rejecția secundară la 4,1—4,2 zile.

Ceea ce este particular la fenomenul descris mai sus constă din faptul că, deși în imunitatea de transplantare predomină reacțiile celulare, totuși, apariția rejecției transplantelor coincide din punct de vedere filogenetic cu perioada în care se instalează și imunitatea umorală.

B. ONTOGENEZA IMUNITĂȚII DE TRANSPLANTARE

Cercetările existente au demonstrat că în cazul amfibienilor, imunitatea de transplantare apare după metamorfoză; la puii de găină, ea se manifestă în ziua a 18-a de incubație, iar la mamifere apariția imunității de transplantare

coincide perioadei perinatale. Momentul nu poate fi determinat cu exactitate, deoarece variază după specii și în cadrul aceleași specii se dezvoltă treptat. În timp ce față de unele antigene există deja un răspuns imun, acesta lipsește față de alte antigene. Pe de altă parte este vorba și de lipsa suficientă de sensibilitate a metodelor imunologice de cercetare. În legătură cu acesta trebuie reamintit că, după cum reiese din cercetările lui Hildemann, la mamifere imunitatea de transplantare apare mai repede decât anticorpii serici. Aceasta s-ar datorî faptului că reacția celulară — care joacă un rol predominant în imunitatea de transplantare — apare mai repede decât puternica reacție imună umorală și deja cantități minime de anticorpi sînt suficiente pentru ca celulele să desfășoare reacția de transplantare. S-ar putea — admit unii autori — ca metoda biologică a transplantării să fie mai sensibilă decât metoda de determinare *in vitro* a anticorpilor.

Se pare că, pentru manifestarea reacției de transplantare, întocmai ca pentru aceea a răspunsului imun umoral, este necesară prezența limfocitelor. Această ipoteză este argumentată prin experiențele lui La Via și colab., care au arătat că la *Oposum* primele semne ale imunității se observă numai după apariția limfocitelor.

ROLUL FACTORILOR TISULARI ÎN IMUNITATEA (ALERGIA) DE TRANSPLANTARE

Prima întrebare pe care a ridicat-o această problemă era determinarea naturii celulelor care participă în cursul fenomenelor imunității tisulare în general și a imunității de transplantare în special.

Datele lui Gowans și colab. (1962), ale lui Hildemann și colab. (1962) au arătat o reacție a transplantului împotriva receptorului în cazul administrării unei suspensii de limfocite mici. În cercetările lui Terasaki (1959), $3 \cdot 10^4$ limfocite provenite din sângele circulant declanșau o reacție transplant-contra-receptor, în timp ce $62 \cdot 10^4$ monocite nu aveau această capacitate.

Limfocitele marcate cu timidină, leucină sau adenzină tritiată, administrate animalelor omologe, pot fi regăsite în pulpa albă a splinei și în stratul cortical al ganglionilor limfatici ai receptorului la 8 ore după administrare, iar după 12—24 de ore se transformă în celule pironinofile. Aceste celule, trecînd prin mitoze succesive, se transformă în limfociti mici care din ganglionii limfatici trec în circulația generală și se comportă ca celule imunocompetente.

Pentru rolul important al limfocitelor pledează faptul că la animalele timectomizate la naștere și care posedă toate tipurile de celule, cu excepția limfocitelor mici, nu se poate realiza o alergie de transplantare și se sistează și anticorpigeneza (Miller, 1961, 1962; Arnsason și colab., 1962; Dalmaso și colab., 1962).

Celulele mamiferelor timectomizate nu sînt capabile să realizeze nici reacția transplant-contrareceptor (Dalmaso și colab., 1962). Scăderea exclusivă a limfocitelor mici, care se însoțesc de inhibarea tuturor reacțiilor imune, s-a observat și la animalele mature, dacă după timectomie ele au fost supuse iradierii subtotale și apoi tratate cu măduvă izologă. La animalele cu număr de limfocite mai scăzut (prin drenajul limfatic prelungit al canalului toracic), McGregor (1963) a reușit să atenueze atît fenomenele alergiei de transplantare,

cît și anticorpigeneza. Waksman și Arhousy (1960) observă aceleași fenomene la cobaii tratați cu ser antilinfocitar de iepure.

Inhibarea competenței imunologice, consecutivă scăderii cantității limfocitelor mici, are loc numai dacă intervențiile mai sus amintite se efectuează pe animale în prealabil neimunizate. Reacția imunologică secundară nu mai este influențată de scăderea conținutului de limfociti mici.

Rolul limfocitelor mici se manifestă în etapele inițiale ale procesului imunogenetic, cele care premerg anticorpigeneza. În cîștigarea competenței imunologice de către limfociti mici, un rol hotărîtor revine recirculării continue ale acestor celule în organism — din circulație în ganglionii limfatici și prin limfă înapoi în circulație (Gowans, 1959; Harris, 1961). Circuitul limfocitelor în organism a fost urmărit de Gowans și Knight (1964), în mod direct prin administrare de limfocite marcate.

Se poate admite că datorită migrării lor continue în organism, limfociti mici posedă capacitatea de a veni în contact direct cu antigenul înainte de pătrunderea acestuia în ganglionii limfatici, ceea ce necesită timp (mai ales cînd antigenul ajunge în organism sub forma de transplant solid). S-ar putea — presupune Gowans (1962) — ca, după contactul cu antigenul, limfociti mici capabili de transformări ulterioare să fie sechestrați în ganglionii limfatici și să se transforme apoi în celule anticorpiformatoare.

Cele afirmate mai sus acordă limfocitului mic două funcții corelate: 1) o funcție legată de hipersensibilitatea de tip întîrziat în general și de alergii de transplantare în special; 2) o funcție legată de convertirea lor în celule anticorpiformatoare.

În ce mod realizează limfocitul aceste funcții?

Răspunsul la această întrebare necesită delimitarea prealabilă a particularităților limfocitului imun față de ale celui normal. Pe baza lucrărilor lui Pappenheimer și colab. (1959) și ale lui Sterzl se admite că antigenul, în primele etape ale procesului de imunizare, induce pe suprafața limfocitului mic o „configurație complementară” corespunzătoare, care apoi dă posibilitatea celulei de a se uni direct cu antigenul. Unirea cu antigenul condiționează distrugerea unora din limfocite și eliberarea enzimelor proteolitice intracelulare (Amos, 1960, 1962). Dacă fenomenul are loc la nivelul unui homotransplant, consecința este distrugerea acestuia.

Admisă ca ipoteză, prezența configurației complementare specifice pe suprafața limfocitului imun este confirmată printr-o serie de date experimentale. Încă în 1955 s-a arătat că, în cazul administrării intravenoase a limfocitelor imuni la animale neimunizate în prealabil, aceștia transferă, fără vreo perioadă de incubatie, hipersensibilitatea de tip întîrziat față de antigenul corespunzător. Există dovezi mai elocvente ale contactului direct al celulelor imune cu antigenul. Astfel, Scheriffart și colab. (1963) demonstrează la iepuri, la care s-a creat o alergie de transplantare, adsorbția antigenului pe limfocite.

Adsorbția specifică a antigenului de către limfociti imuni nu poate fi atribuită anticorpilor „citofili”, căci capacitatea de a absorbi din ser anticorpii citofili o posedă celulele oricărui țesut, iar amploarea acestei adsorbții depinde de diametrul celulelor (Keller și colab., 1963), în timp ce imunitatea tisulară este o funcție specifică a sistemului limfoid.

În ultimii ani au fost obținute mai multe date, care pledează pentru capacitatea limfocitelor imuni de a se uni specific cu antigenul și majoritatea lor subliniază prezența pe suprafața acestora a unei structuri complementare; aceasta dă posibilitatea de a se uni specific cu antigenul.

În 1963, Najarian și Feldman au realizat transferul imunității specifice față de homotransplant, cu ajutorul γ -globulinei izolate din limfociti imuni, γ -globulinele serice neavând această capacitate.

Această observație experimentală a deschis problema încă foarte puțin bătătorită a naturii anticorpilor celulari.

Lawrence și colab. au postulat existența unui așa numit „factor de transfer”, care poate fi izolat din celulele cu competență imunologică. Eliberarea factorului de transfer din limfociti s-a realizat prin tratarea lor cu apă distilată, congelare și decongelare repetată.

După unele date, factorul de transfer ar fi o γ -globulină (Cole, Favour — 1955; Rauch, Favour — 1960; Klein, Pathode — 1963). Cercetările cromatografice pe DEAE-celuloză nu au putut confirma această ipoteză.

S-a încercat identificarea naturii anticorpilor celulari prin urmărirea efectului citotoxic cu diferite fracțiuni obținute din limfociti imuni asupra homotransplantului (Wilson și Crosbi, 1952). Rezultatul a fost că toate fracțiunile testate prezentau efect citotoxic. Rămîne totuși în atenția cercetărilor viitoare lucrările lui Powell și colab. (1962, 1964), care au arătat că fracțiunea insolubilă a extractului limfocitar de cobai imuni față de homotransplant determină hipersensibilitate de tip întârziat dacă se administrează intracutanat la donatori. Activitatea acestei fracțiuni nu se modifică prin tratare cu ADN-ază și ARN-ază, dar este distrusă de tripsină.

Este larg răspîndită părerea despre imposibilitatea de a se separa un anticorp celular activ de structura limfocitului imun. Credem că, deși tacit, această părere a stat la originea lucrărilor care au vizat prepararea serului antilimfocitar pentru deprimarea imunității de transplantare și în care imunizarea se face cu suspensii de limfocite intacte.

BLASTOGENEZA LIMFOIDĂ, INDICATOARE A ALERGIEI DE TRANSPLANTARE

Rolul limfocitelor mici în imunitatea celulară în general și în cazul particular al alergiei de transplantare pare un fapt bine dovedit. Una dintre manifestările pregnante ale răspunsului limfocitelor la acțiunea antigenelor este transformarea lor blastoidă. Acest fenomen se poate urmări bine *in vivo* (fig. XVII, 3; XVII, 4; XVII, 5; XVII, 6; XVII, 7; XVII, 8), dar se poate decela în condiții experimentale bine codificate și *in vitro* pe culturi limfocite.

Blastogeneza limfoidă, pe lângă importanța teoretică în studiul imunității tisulare, a fost rapid valorificată în practica clinică. A devenit o examinare de rutină în studiul alergiei medicamentoase, în diagnosticul bolilor tisulare.

Fig. XVII, 3. Imaginea histologică a unei homogrefe cutanate cu reacție de rejecție (după A. Castermans).

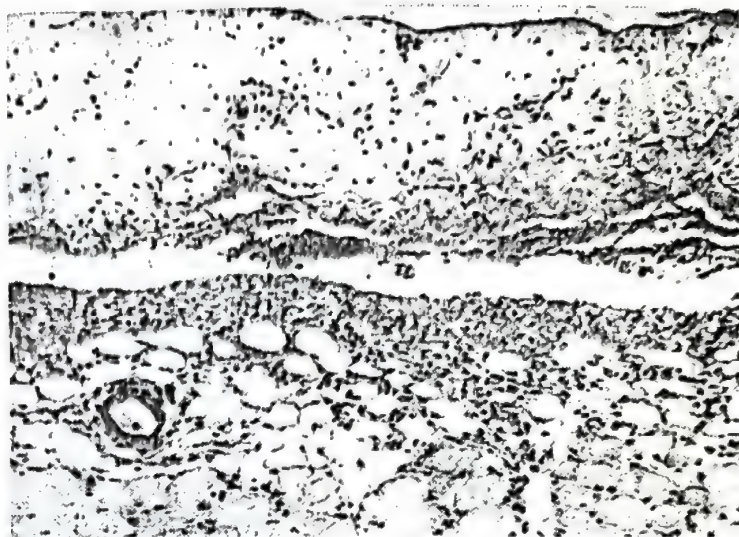


Fig. XVII, 4. Homotransplant renal cu infiltrație histioplasmocitară și necroza parenchimului adiacent (după A. Govaerts).

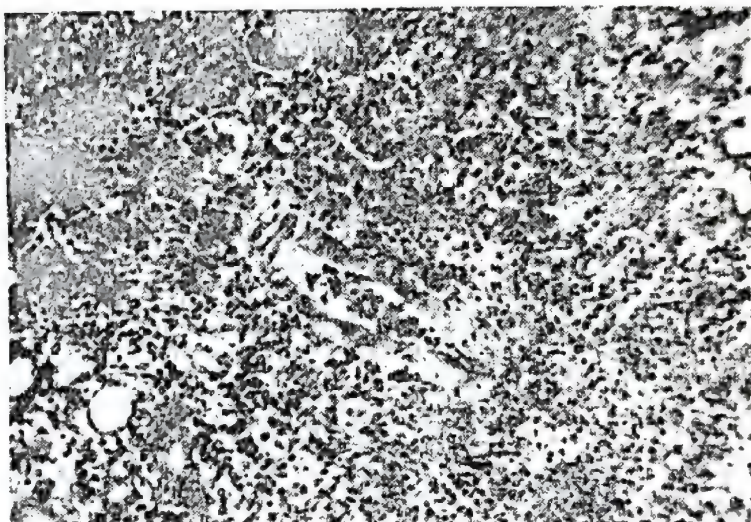
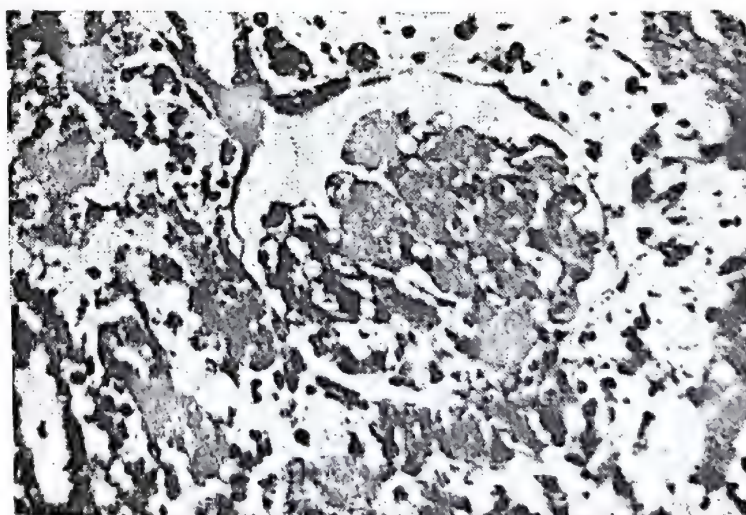


Fig. XVII, 5. Tromboza arterei aferente glomerulare în rinichiul transplantat, prezentînd fenomene de rejecție (după A. Govaerts).



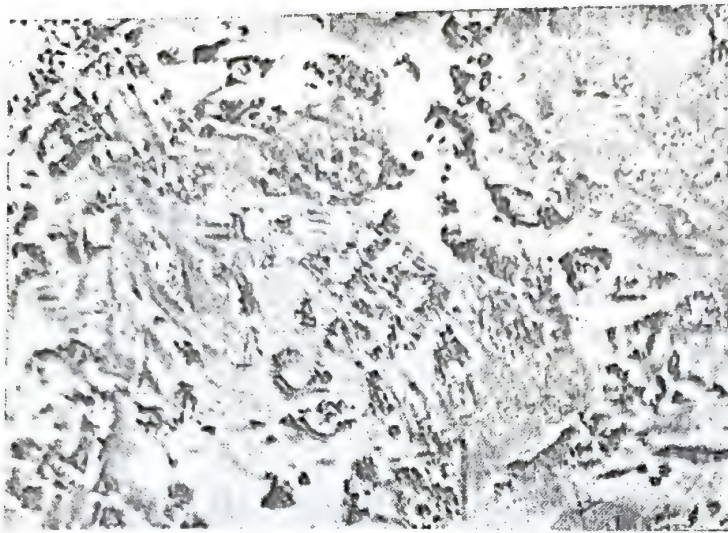


Fig. XVII, 6. Cultură renală cu suspensie de limfocite, după 24 de ore de contact (după A. Govaerts).

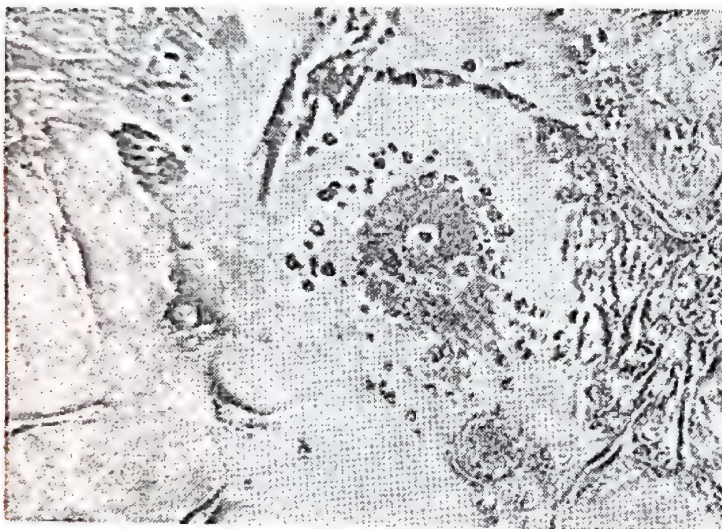


Fig. XVII, 7. Cultură renală cu suspensie de limfociti. Se observă coroanele de limfociti (după A. Govaerts).

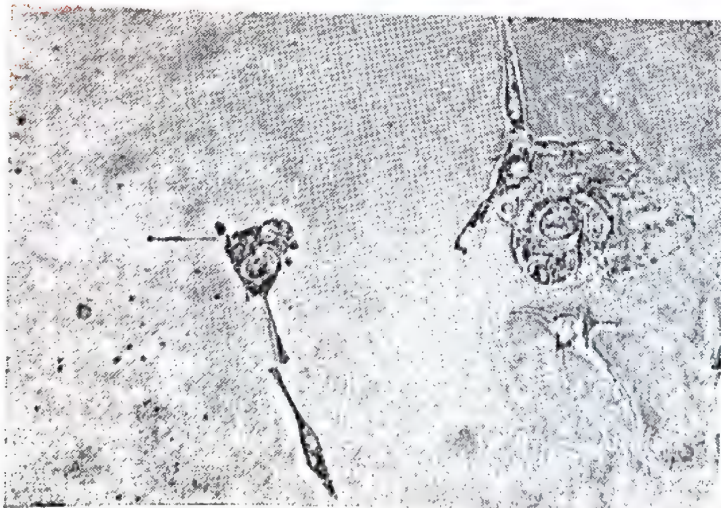


Fig. XVII, 8. Cultură renală în prezență de limfociti și complement. Se observă liza aproape completă (după A. Govaerts).

Totalitatea substanțelor care declanșează transformarea blastoidă au fost denumite mitogene. Există mitogene specifice și nespecifice.

Pentru studiul transformării blastice a limfocitelor se utilizează culturile de limfociti circulanți tratați cu substanțe a căror acțiune mitogenă dorim să o evidențiem. În cazul studiului compatibilității tisulare, substanța mitogenă studiată este reprezentată prin antigenele de transplantare.

Prezența incompatibilității tisulare face ca antigenele de transplantare să ducă la transformarea blastică a limfocitelor din cultură cu creșterea volumului lor, vacuolizări citoplasmice, prezența de nucleoli în nuclei și asocierea frecventă în grupuri a limfocitelor. Desigur, de multe ori examenul morfologic pentru aprecierea proporției transformării blastice este insuficient. În acest caz se recurge la studiul metabolismului ADN limfocitar din cultură, cu ajutorul ADN ce conține timidină tritiată.

Transformarea blastică a limfocitelor reprezintă manifestarea morfologică a imunocompetenței acestora. Acest caracter morfologic este însoțit de modificări metabolice marcate. Prima modificare este degradarea parțială a ARN. De asemenea se poate evidenția precoce activarea fermentilor lizozomali.

Degradarea parțială a ARN este urmată de neoformarea de ARN mai ales informațional. Nu este complet elucidat rolul ARN neoformat. S-ar putea ca moleculele de ARN informațional să dirijeze creșterea celulei și pregătirea sintezei unor noi molecule de ARN.

Alte molecule de ARN ar putea dirija diferite răspunsuri metabolice nuanțate, poate chiar sinteza imunoglobulinelor. Deși semnificația exactă a diferitelor modificări metabolice descrise în cursul blastogenezei limfoide nu este precizată, cert este că ea semnalizează prezența unui proces imun în genere și alergiei de transplantare în cazul particular urmărit de noi.

SERUL ANTILIMFOCITAR HETEROLOG (S.A.L). ȘI ALERGIA DE TRANSPLANTARE

Rezultatele bune obținute în cursul transplantărilor prin aplicarea S.A.L. au fost premise de o dezvoltare explozivă a cercetărilor experimentale.

Părintele S.A.L. este Mécinikov, care la sfârșitul secolului trecut a publicat observațiile sale făcute la Institutul Pasteur din Paris. Imunizând iepuri cu țesut limfatic provenit de la șobolani și cobai, a obținut un ser antilimfocitar, care *in vitro* a influențat semnificativ activitatea și fagocitoza celulelor de șobolani și cobai și era toxic asupra granulocitelor și limfocitelor.

Cercetările ulterioare au arătat că erau mai active serurile obținute prin imunizări repetate. Antiserurile astfel obținute *in vitro* distrugau celulele limfoide sau reduceau mobilitatea celulelor. Capacitatea lor aglutinantă persistă și după decomplexare termică.

În experiențe *in vivo*, după administrarea S.A.L. s-a remarcat o limfopenie trecătoare și involuția tranzitorie a organelor limfoide. Acest fenomen nu putea fi explicat printr-un efect citotoxic, deoarece activitatea S.A.L. persista și după absorbția citotoxinelor.

S.A.L. reduce și hipersensibilitatea de tip tuberculinic, iar în 1963, Woodruff și Anderson au demonstrat scăderea imunității de transplantare

sub acțiunea S.A.L. În experiențele lor, S.A.L. de iepure a prelungit semnificativ supraviețuirea alotransplantelor cutanate. Aceste cercetări au deschis o fază nouă în studiul S.A.L.

Numai după cercetări timp de un deceniu a fost posibilă S.A.L. să fie aplicată și în clinică, ca un puternic agent imunodepresor. Experiențele obținute la transplantările renale, au arătat că tratamentul cu S.A.L. — în asocieră cu alte imunodepresoare — prelungeste mult durata de supraviețuire a rinichilor și în plus se putea reduce și doza imunodepresoarelor uzuale. Mai mult, imunoglobulina purificată din S.A.L. poate fi administrată fără pericol și pe cale intravenoasă.

În general S.A.L. se obține prin imunizarea animalelor de alte specii (xenogene) cu celule limfoide. N-au dat rezultate imunizările alogene.

Prepararea S.A.L. deocamdată este destul de empirică. Diferiți autori aplică scheme diferite de imunizare și chiar pe lângă aceeași schemă de imunizare, activitatea S.A.L. obținută este foarte diferită.

Rezultatele experimentale pe animale au demonstrat o acțiune limfopeniantă a S.A.L. cu caracter trecător. Nu există o dependență directă între gradul limfopeniei și acțiunea imunodepresoare. Mulți autori au descris involuția timusului după S.A.L. Această observație a reprezentat punctul de plecare al ipotezei, potrivit căreia S.A.L. își manifestă efectul imunodepresor prin releu timic. Astăzi însă s-a încetățenit părerea că involuția timică este consecința secundară a *stress*-ului de tratament.

La nivelul ganglionilor limfatici, astăzi este dovedită acțiunea S.A.L. asupra foliculilor limfoizi paracorticali, iar în splină la nivelul regiunii periarteriolare. De fapt, în aceste regiuni sînt localizate limfocitele timodependente răspunzătoare de răspunsul imun celular.

O deosebită atenție a fost acordată studiului rinichiului după administrarea S.A.L., deoarece tratamentul cu proteine heterologe incumbă posibilitatea apariției unei nefrite de tip Masugi și a unei nefrite serice. În primul caz, S.A.L. se poate fixa de celulele endoteliale renale și să le lezeze; în ultimul caz, leziunea renală poate fi consecința sechestării renale a imunoglobulinelor anti-S.A.L. și a microprecipitatelor de S.A.L. Dacă în experiențele pe animale, asemenea leziuni au fost puse în evidență, în biopsiile renale la bolnavii tratați cu S.A.L. nu s-au putut pune în evidență IgG S.A.L.

Acțiunea S.A.L. *in vivo* a fost studiată în multe fenomene imune și autoimune. Vom trece peste acestea, oprindu-ne asupra efectului S.A.L. în alergia de transplantare. Primele observații au fost făcute în același timp de două colective de cercetări: în Anglia, Medawar, Levey și Lance, iar în S.U.A. Russel, Gray și Monaco.

După aceste cercetări, S.A.L. deprimă nu numai reacția de rejecție cutanată alogenă, ci și — în măsură mai mică — cea xenogenă. S.A.L. deprimă memoria imunologică legată de celule.

Caracterul acțiunii S.A.L. depinde și de deosebirile genetice dintre donator și receptor. În cazul unor deosebiri genetice puternice (H-2), numai S.A.L. puternic are efect, efectul imunodepresor fiind prezent în toate serurile anti-limfocitare, în cazul deosebirilor genetice slabe (H-3).

În experiențe *in vitro*, pe diferite modele s-a demonstrat efectul imunodepresor al S.A.L.: imunoaderența, capacitatea de a forma colonii etc.

S.A.L. induce în limfocite procese metabolice fundamentale: determină transformarea blastică a 60—90% din limfocite. Apogeul blastogenezei limfocitare se observă la 72 de ore după tratament. Sub acest raport, acțiunea S.A.L. se aseamănă cu cea a serului antiglobulinic și a fitohemaglutininei.

S.A.L. inhibează transformarea blastică în cultura mixtă limfocitară.

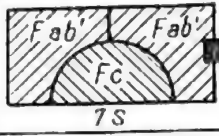
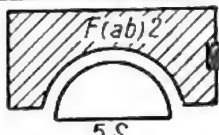
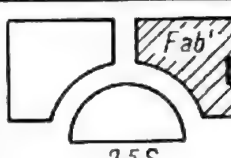
	Activitate biologică	Acțiune	
 7S	Citotoxicitate Leucoaglutinare Transformare blastică Imunodepresiune	+++ +++ +++ +++	
 5S	Citotoxicitate Leucoaglutinare Transformare blastică Imunodepresiune G.V.H. reacție	— ++ ++ — +	
 3,5S	Citotoxicitate Leucoaglutinare Transformare blastică Imunodepresiune	— — + +	

Fig. XVII, 9. Schema efectelor biologice ale Ig G-SAL și a fragmentelor F(ab)2 și Fab (după K. Nouza și colab.).

Întrucât serurile antilimfocitare au fost obținute prin hiperimunizare nu este surprinzător că activitatea antilimfocitară este schimbată de IgG (7 S). Frațiunea IgG purificată a S.A.L. a fost denumită globulină antilimfocitară (GAL). Numai 1—3% din preparatele purificate de GAL se leagă de suprafața limfocitelor; numai această mică fracțiune poate fi considerată anticorp antilimfocitar „adevărat”. Restul de 97—99% reprezintă substanțe de balast care pot scădea acțiunea antilimfocitară pură a GAL.

Au fost deja întreprinse cercetări pentru studiul relațiilor dintre structura submoleculară a GAL și efectul ei imunodepresor (fig. XVII, 9).

Prin digestie pepsinică, molecula IgG poate fi scindată în fragmentul F(ab)2; acest fragment induce transformarea blastică și condiționează leucoaglutinarea. Fragmentul monovalent Fab' are o activitate biologică mult mai mică și nu are acțiune imunodepresoare.

Fragmentul Fc, obținut prin digestie papainică, este purtătorul specificității de specie și a receptorilor necesari fixării complementului. După cum reiese din fig. XVII, 9, prezența fragmentului Fc este necesară pentru activitatea imunodepresoare.

Nici pînă în prezent nu se cunoaște mecanismul de acțiune a S.A.L. Au apărut numeroase teorii, parțial fundamentate experimental, dar sigură nici

una nu explică acțiunea complexă a S.A.L. Deoarece fiecare din teoriile emise conține un sîmbure de adevăr, în figura XVII, 10, redăm diferitele teorii emise.

Care sînt perspectivele tratamentului cu S.A.L.? Trebuie să remarcăm întîi că tratamentul intravenos cu S.A.L. care în lumina concepțiilor clasice ale imunologiei ar părea foarte periculos, s-a arătat un tratament imunodepresor foarte eficace. Totuși, tratamentul prelungit nu este lipsit de riscuri, deoarece au fost obținute fenomene locale și generale de intoleranță și de asemenea se obțin anticorpi îndreptați împotriva S.A.L. („self antidotal effect“).

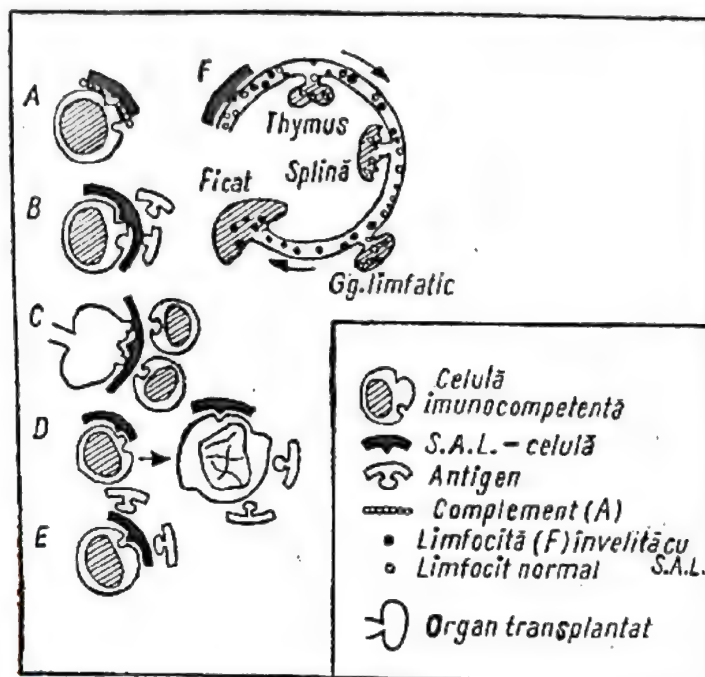


Fig. XVII, 10. Prezentarea schematică a principalelor teorii despre mecanismul de acțiune a serului antilimfocitar.

A—acțiune limfocitică; B—efectul de învelire a receptorilor de pe suprafața limfocitelor; C—efectul de acoperire a antigenelor de pe suprafața organului transplantat; D—S.A.L. prin efect competitiv inhibează reacțiile imune (după K. Nouza și colab.).

Totuși, purificarea înaintată a GAL a redus mult riscurile tratamentului și asocierea cu alte imunodepresoare a condiționat și reducerea cantității de S.A.L., necesară asigurării toleranței de transplantare.

GENETICA HISTOCOMPATIBILITĂȚII UMANE

Ea a fost studiată cu ajutorul imunogeneticii, utilizându-se metodele proprii de cercetare a acesteia din urmă. Concret, studiul geneticii histocompatibilității umane constă din analiza teoretică a situațiilor genetice care se pot întîlni într-o populație umană, care apoi se confruntă cu studiile globale de histocompatibilitate realizate în cazul transplantării renale, grefelor de piele și al culturilor mixte limfocitare.

Într-o populație umană, căsătoriile se fac de obicei, sub raport genetic, la întâmplare și astfel raporturile genetice realizabile sînt în funcție de următoarele posibilități: partenerii sînt neconsanguini (NC), membri ale aceleași fratrii (FF), ascendenți sau descendenți (părinte-copii) (PC).

Probabilitățile de compatibilitate în aceste trei eventualități au fost calculate de Newth, care pentru un singur locus în funcție de n alele cu frecvențe egale a ajuns la următoarele formule ale probabilității histocompatibilității între parteneri:

$$PC = \frac{2n-1}{n^2}$$

$$PP = \frac{n^3 + 4n^2 + 2n - 3}{4n^3}$$

$$NC = \frac{4n-3}{n^3}$$

Lunghi, apoi Serra și O'Mathuna au generalizat formulele lui Newth pentru cazurile cu mai multe locusuri, ocupate de un număr variabil de alele.

Analizele făcute concret și generalizarea lor statistică arată că în cazul asocierii părinte-copil, fiecare copil are totdeauna o alelă identică cu una din cele două alele ale fiecărui părinte. În 100% din aceste cazuri, diferența maximă va fi constituită de jumătate din caracterele transmise de celălalt părinte.

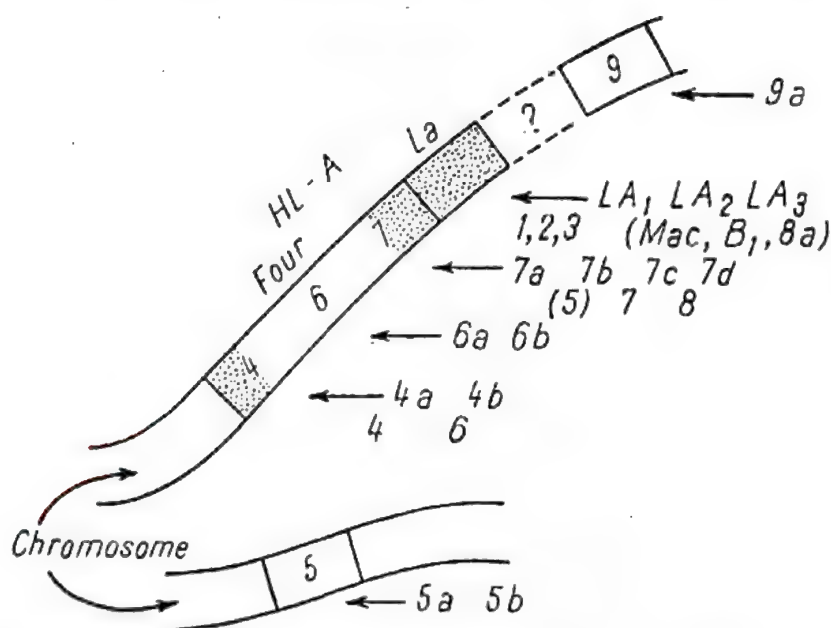


Fig. XVII, 11. Localizarea schematică a informației genetice pentru antigenele leucocitare pe cromozom (după J. J. van Rood).

În cazul asocierii a doi membri ai aceleiași fratrii, diferența maximă va fi reprezentată de 50% a caracterelor celor doi parteneri, 25% din perechile fraterne sînt identice pentru caracterele considerate. În 25% din

cazuri, diferențele genetice în interiorul fiecărei perechi sînt identice cu cele existente în interiorul cuplului parental.

În practica transplantărilor, importanța imediată este dată nu de numărul tuturor locusurilor de histocompatibilitate și de alelele lor, ci de numărul de alele care dirijează antigenele „puternice” de histocompatibilitate. Cercetările lui Simonsen în cazul transplantărilor renale, cele ale lui Ceppellini în grefele cutanate și, în sfîrșit, testele de cultură mixtă limfocitară atestă justetea celor afirmate mai sus.

În baza hotărîrii O.M.S., sistemul principal de histocompatibilitate la om a fost denumit HL-A. Principalele sisteme de histocompatibilitate umane la om sînt:

- HL—A1 = antigen 11
- HL—A2 sau Mac = antigen 1
- HL—A3 = antigen 12
- HL—A5 = antigen 5
- HL—A7 = antigen 10
- HL—A8 = antigen 8

În fig. XVII, 11 este dată, după Van Rood, repartizarea în locusuri și sublocusuri a principalelor antigene de histocompatibilitate la om.

LOCALIZAREA TISULARĂ ȘI CELULARĂ A ANTIGENELOR DE TRANSPLANTARE LA OM

Distribuția și concentrația antigenelor la nivelul țesuturilor și localizarea lor în structurile celulare condiționează în ultimă analiză rolul lor biologic. Antigenele de histocompatibilitate pot fi repartizate în mare concentrație în multe țesuturi, să fie deci pluritissulare, și în felul acesta imunitatea de transplantare este specifică nu organului, ci individului sau să fie slab reprezentate în unele organe, sau să lipsească complet. Berah și colab. au studiat repartizarea antigenelor pluritissulare. Aceste cercetări au permis evaluarea concentrațiilor antigenelor HL—A2 în diverse organe. În comparație cu concentrația lor în splină, considerată convențional 100%, în plămîn această concentrație este 50%, în ficat 40%, în intestin 30%, în rinichi 25%, în inimă și stomac 10%, în aortă și creier 5%.

Rezultă de aici că specia celulară în care concentrația antigenică este mai mare va fi prima țintă a mecanismelor de rejecție.

O importanță decisivă prezintă și accesibilitatea antigenelor, prezența la suprafața celulei implicînd un risc mai mare de rejecție. În cazurile în care se stabilește o continuitate vasculară între receptor și transplant, țesuturile cele mai vascularizate sînt mai expuse mecanismelor de rejecție.

Localizarea antigenelor sistemului HL—A la nivelul leucocitelor este superficială. Experiențele lui Van Rood de fracționare celulară confirmă această localizare la nivelul membranelor, care sînt capabile de a induce o imunitate de transplantare.

Nomenclatura internațională a antigenelor de transplantare la om, elaborată la a IV-a Reuniune internațională de histocompatibilitate (Los-Angeles-Palm-Springs, Ianuarie, 1970)

Nomenclatura HL-A		Frecvența medie a reac- țiilor pozitive	Nomenclatura veche				
			Dausset	Kissmeyer- Nielsen	Walford	Cepellini	Terasaki
Seria I (LA)	HL-A ₁	24-27*	Da ₁₁	KN-LA ₁	Lc1	To8	Te1
	HL-A ₂	41-53	Da ₁ (Mac)	KN-LA ₂	Lc2	To9	Te2
	HL-A ₃	22	Da ₁₂	KN-LA ₃	Lc3	To10	Te8
	HL-A ₉	20-23	Da ₁₆	—	Lc11	To12	—
	HL-A ₁₀	11	Da ₁₇	—	Lc20	To13	Te12
	HL-A ₁₁	10-13	Da ₂₁	KN-ILN	—	To26	Te13
Seria II-a (a patra)	HL-A ₅	12	Da ₅	—	—	To5	Te6
	HL-A ₇	19	Da ₁₀	KN-4B	Lc8	To20	Te5
	HL-A ₈	17-23	Da ₈	—	Lc7	To7	Te11
	HL-A ₁₂	25-28	Da ₄	KN-T ₁₂	Lc26	To11	Te9
	HL-A ₁₃	5-6	—	KN-HN	—	To21	Te26

* Frecvența medie a fost stabilită pe baza examinărilor făcute în 15 laboratoare. S-au utilizat limfocite de la 546 de donatori luați la întâmplare.

Elaborată de: Albert E.; Allen F.; Amos D. B.; Batchelor R.; Bodmer W.; Cepellini R.; Dausset J.; Enbelfriet J.; Jeannet M.; Kissmeyer-Nielsen F.; Mattiuz P.; Mickey M. R.; Morris P.; Payne R.; Piazza A.; Terasaki P.; van Rood J. J.; Walford R.; Zmijewski C.

VALOAREA APLICATIVĂ A STUDIULUI HISTOCOMPATIBILITĂȚII

Ea se referă la selecționarea donatorului și receptorului într-un caz concret de transplantare. Este vorba de a face o selecționare între diferite combinații posibile: selecționarea celui mai adecvat donator pentru un receptor dat sau alegerea celui mai bun receptor pentru un donator dat. Această ultimă eventualitate se referă la cazurile — ce vor fi din ce în ce mai frecvente — de transplantare a organelor conservate, provenite de la cadavre.

Oricare ar fi aspectul urmărit în ultimă analiză, va trebui să selecționăm un donator ale cărui țesuturi au capacitatea cea mai redusă de a genera un răspuns imun la receptor.

Pentru a face o asemenea selecționare, în lumina cunoștințelor pe care le aveam asupra biologiei histocompatibilității, va trebui să aplicăm teste de decelare a gradului de histocompatibilitate. Un test ideal de histocompatibilitate, după Brent, trebuie să corespundă următoarelor 6 cerințe:

1. să fie un test de excludere, adică, să elimine combinația donator-receptor, susceptibilă de a genera un răspuns imun intens;
2. să fie un test de selecție, adică capabil de a alege combinația în care reacția imunitară este cea mai redusă;
3. să nu sensibilizeze receptorul;
4. să poată fi executat rapid, pe lângă o mare putere discriminativă;
5. să poată fi aplicat și la un receptor bolnav;
6. să fie aplicabil la un donator-cadavru.

Metodele de care dispunem astăzi pentru evaluarea histocompatibilității sînt redată în tabelul lui Brent (tabelul XVII, 1).

TABELUL XVII, 1

Metodele de evaluare a histocompatibilității în funcție de criteriile lui Brent

	Capacitate de excludere	Capacitate de selecție	Sensibilitatea receptorului	Timpul de execuție	Aplicabil la receptor ureic	Aplicabil la donator cadavru
Metode globale:						
— Grefe teste (de piele) prealabile;	Da	?	Da	10 zile	?	Nu ?
Testul celui de al 3-lea om;	Da ?	?	Nu	20 zile	Da	Nu ?
— Cultură mixtă de limfocite;	Da	Da	Nu	4–5 zile	?	Da
— Testul hamsterului iradiat;	Da	?	Nu	2 zile	?	Da
— Testul de transfer al limfocitelor normale;	Da	?	Nu	—	?	?
— Proba compatibilității încrucișate întreserul receptorului și leucocitele donatorului (test de excludere);	Da	?	Nu	2 ore	Da	Da
Metode analitice. Determinarea grupelor:	Da	Da	Nu	—	Da	Da
— Eritrocite ABO-P ₁ -P ₂				$\frac{1}{2}$ oră		
— Tisulare HL-A				2 ore		
— Serice I _p				24 ore		

CONCLUZII

Ultimii 10 ani au revelat problemele de bază ale studiului histocompatibilității. Descoperirea și caracterizarea parțială a antigenelor de histocompatibilitate la animale (sistemul H) și la om (sistemul HL-A) permit o selecționare destul de bună a asocierii receptor-donator pentru transplantare. Totuși, rezultatele viabilității transplantului încă nu concordă complet cu previziunile pe care ni le oferă diferitele teste de histocompatibilitate. Așa se explică de ce crize de rețetare sînt încă foarte frecvente în practica transplantelor.

O reducere a acestui risc a fost introdusă prin medicația imunodepresoare. Trebuie să mărturisim că la ora actuală, nici unul dintre agenții imunodepresori — fizici, chimici, hormonal, biologici — nu asigură o deplină securitate în rezultatele îndepărtate ale supraviețuirii și funcției normale a organului transplantat.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. A m o s ^T D. B. — Human histocompatibility, *Science*, 1968, 159, 659.
2. B a c h F., H i r s c h h o r n K. — Lymphocyte interaction: a potential histocompatibility test *in vitro*, *Science*, 1964, 143, 813.
3. B o z s o k y S. — A lymphocyták blastoid transformatioja, *Orvoshéprzés*, 1969, 44, 49.

4. Brent L., Medawar P. B. — Tissue transplantation: a new approach to the „typing“ problem, *Brit. med. J.*, 1963, 2, 269.
5. Brondz B. D. — Aspecte în studiul naturii hipersensibilității de tip întârziat și a fenomenelor legate de ea, *Usp. sovrem. Biol.*, 1965, 59, 257.
6. Colombani J., Dausset J. — L'histocompatibilité humaine *Path. et Biol.*, 1969, 17, 281.
7. Csaba G. — Transplantatio immunitas, Az orvostudomány aktuális problémái, 1968, 2, 163—200.
8. Castermans A. — Étude des antigènes de transplantation. Ed. Arscia-Bruxelles, Ed. Maloine, Paris, 1962.
9. Davies D. A. L., Stone A. J., Viza D. C., Colombani J., Dausset J. — Human transplantation antigens: the HL-A (Hu-1) system and its homology with the mouse H-2 system, *Transplantation*, 1968, 6, 571.
10. Govaerts A. — Les anticorps de transplantation, Ed. Arscia-Bruxelles, Ed. Maloine, Paris, 1964.
11. Hildemann W. H., Haas L. — Comparative studies of homotransplantation in fishes, *J. cell. comp. Physiol.*, 1960, 55, 227.
12. La Via M. F., Rowland D. T., Block M. — Antibody formation in embryos, *Science*, 1963, 140, 1219.
13. Lunghi J. — Teoria della frequenza di incompatibilità da trapianto, *Atti Ass. Genet. ital.*, 1965, 10, 311.
14. Marinescu V., Păușescu E., Negrea F. — Biologia transplantării țesuturilor și organelor, Ed. medicală, București, 1967.
15. Mathé G., Méry A. M., Amiel J. L., Schwarzenberg L. — Sélection du meilleur donneur pour les greffes et transplantation allogénique chez l'homme, *Rev. franc. Étud. clin. biol.*, 1966, 11, 565.
16. Najarian J. S., Feldman J. D. — Passive transfer of transplantation immunity. I. Tritiated lymphoid cells. II. Lymphoid cells in millipore chambers, *J. exp. Med.*, 1962, 115, 1083.
17. Newth D. R. — Chance compatibility in homografting, *Transplant. Bull.*, 1961, 27, 452.
18. Nouza K., Benczur M., Petrányi G. jr. — Heterolog antilymphocytasérum immunosupresiv hatásának elméleti és klinikai jelentősége, *Orvosképzés*, 1970, 50, 59.
19. Rapaport F. T., Dausset J. — Human transplantation, Ed. Grune și Stratton, New York, 1968.
20. Rood J. van, Leeuwen A. van, Schippers A., Ceppellini R., Mattiuz P. L., Curtioni S. — Leukocyte groups and their relation to homotransplantation, *Ann N.Y. Acad. Sci.*, 1966, 129, 467.
21. Serra A., O. Mathama O. — A theoretical approach to the study of histocompatibility in man, *Ann. hum. Genet.*, 1966, 30, 97.
22. Simonsen M. — Strong transplantation antigens, *Lancet*, 1965, I, 415.
23. Terasaki P., Vredovoe D. L., Mickey M. R., Poerter K. A., Marchioro T. L., Faris T. D., Starzl T. E. — Serotyping for homotransplantation. VII. Selection of kidney donors for thirty two recipients, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1966, 129, 500.
24. Voisin G. A. — Les anticorps „cytophiles“ et leur rôle biologique *Rev. franc. Étud. clin. biol.*, 1967, 12, 433.
25. Walford R. L. — The relation of anti-leukocyte antibodies to the homograft reaction, their occurrence in human sera, *Transplantation*, 1958, 5, 55.
26. Woodruff M. F. A., Forman B. — Evidence of production of circulating antibodies by homografts of lymphoid tissue and skin, *Brit. J. exp. Path.*, 1950, 31, 306.
27. Woodruff M. — Les lymphocytes et le sérum antilymphocytaire, *Endeavour*, 1969, 28, 65.

TEORIA MOLECULARĂ A NARCOZEI. ASPEC- TE DE FARMACOGEE- NETICĂ ÎN ANESTEZIE

L. Roman

A. TEORIA MOLECULARĂ A NARCOZEI

Pentru abordarea acestei probleme considerăm că este necesară o prealabilă definire a noțiunii de anestezie.

Anestezia este în primul rând lipsa de senzații dureroase; și în general de toate senzațiile. Acesta este conceptul primar, dar mai amănunțit privită, anestezia poate fi disecată în anestezie locală și anestezie generală. De ce? Fiindcă teoria anesteziei locale este diferită: teoria anesteziei de contact se bazează

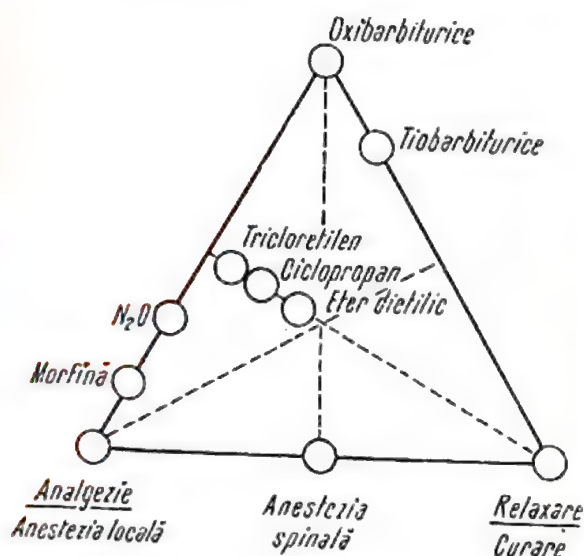


Fig. XVIII, 1. Triunghiul anestezic Young.

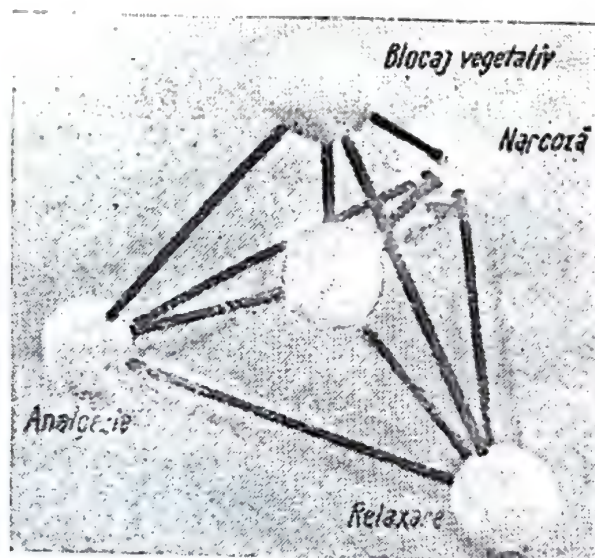


Fig. XVIII, 2. Tetraedrul anestezic.

pe stabilizarea membranei celulare prin acțiunea directă a substanței anestezice, iar teoria anesteziei generale — de care ne ocupăm — se bazează pe alte date, fiindcă anestezicul nu lucrează pe bază de contact.

Astăzi se știe că anestezia generală este o reorganizare funcțională a sistemului nervos, care variază de la o formă superficială la una profundă,

putînd fi obținută în mod reglabil, gradat și reversibil prin administrarea unor substanțe de mare diversitate chimică și fizică.

Această anestezie generală se compune de fapt din trei elemente de bază: narcoza, analgezia și relaxarea musculară, ceea ce a permis lui T. M. Young, în 1957 (16), să o reprezinte sub forma unui triunghi, în vîrfurile căruia sînt elemente de bază, iar pe aria lui, în funcție de preponderența efectelor, diversele substanțe utilizate (fig. XVIII, 1).

Este evident că fiecare dintre cele trei componente poate fi exacerbată în dauna celorlalte. Teoretic, toate trei ar trebui să fie egale, dar studiile moderne au arătat că:

— este preferabil să accentuăm analgezia, hipnoza să fie superficială (deci trezire rapidă), iar relaxarea să fie obținută la cerere;

— pe lângă cele trei componente menționate, este de o mare importanță acțiunea anesteziei pe sistemul nervos vegetativ, mai precis pe sistemul simpatic, prin care se obține stabilitatea vegetativă, deci acțiunea antișoc.

Astfel, anestezia actuală reclamă patru componente de bază, pentru care sugerăm reprezentarea sub forma unui tetraedru regulat, în vîrfurile căruia sînt plasate hipnoza, analgezia, relaxarea și blocajul vegetativ. Teoretic, anestezia ideală este cea care obține înțîlnirea celor patru componente în centrul acestei piramide. Anestezicul ideal — care nu există — ar fi aceea substanță, care ar produce cele patru efecte în mod echilibrat (fig. XVIII, 2).

★

Pentru a explica mecanismul narcozei, s-au elaborat un număr considerabil de teorii (prezentăm tabelul cronologic al „teoriilor narcozei“, care ne confirmă aceasta).

TABELUL XVIII, 1

Teoriile narcozei
(întocmit după N. du Bouchet)

1875 Cl. Bernard	— Semicoagularea reversibilă a protoplasmei
1882 R. Dubois	— Deshidratarea protoplasmei
1899 C. Richet	— Insolubilitatea relativă a anestezicelor în apă; solubilitatea în grăsimi
1899 Overton și	— Teoria lipoidică a narcozei; rolul coeficientului de partaj
1901 Meyer	
1913 Traube	— Rolul scăderii tensiunii superficiale
Warburg	— Adsorbție și inhibiție fizico-chimică
Heilbronn, Ennecke	— Creșterea viscozității protoplasmei
1939 Ferguson	— Rolul coeficientului de activitate termodinamică
Ostergreen	— Precipitarea lanțurilor lipofile ale proteinelor
Quastel	— Perturbarea respirației celulare prin inhibiție enzimatică
1951 Schneider	— Teoria dinamică a narcozei
1961 L. Pauling	— Teoria moleculară cristalografică
și	
1966 D. Kupfer-Tsoucaris	

Vom examina foarte succint principalele teorii, urmînd să discutăm în detaliu teoria lui L. Pauling, care formează de fapt obiectul expunerii.

Cl. Bernard, frapat de similitudinea efectelor esențiale ale diverselor substanțe anestezice, afirmă că „dacă există mai multe anestezice, nu există în

schimb decît o singură anestezie" (cit. 1). El a observat pe mușchii și nervii scufundați într-o soluție anestezică un aspect opalescent și de aceea a apreciat că semicoagularea poate să corespundă anesteziei protoplasmatică reversibilă. El nu a putut merge mai departe cu analiza detaliată a fenomenului și teoria a rămas chiar pentru el o ipoteză.

Ideea a fost reluată mai tîrziu de Handowski, care admite că semicoagularea poate afecta fie faza proteică, fie faza lipidică a protoplasmei.

Teoria lipoidică a fost prezentată de Meyer în 3 fraze:

1. Orice substanță chimică care este solubilă în grăsime produce narcoză.
2. Acțiunea narcotică se manifestă în mod deosebit pe celulele bogate în lipide.
3. Puterea narcotică depinde de un coeficient care determină partajul anestezicului între apă și substanțe grase.

Însă liposolubilitatea este numai un detaliu al unui mecanism complex.

Teoriile variației tensiunii superficiale, a absorbției, reprezintă epifenomene și nu cauza esențială a fenomenului.

Un al doilea grup de teorii se ocupă cu efectele reacțiilor enzimatice din metabolismul oxidativ, din care amintim teoria lui Quastel, care arată importanța inhibiției anumitor enzime respiratorii în timpul narcozei, mai ales a sistemului flavo-proteină-citocrom B. Este o teorie seducătoare, dar bazată pe date sărace.

În sfîrșit, o tentativă recentă și spectaculară de corelare a efectelor anestezice cu proprietățile fizice ale anestezicelor a fost făcută de L. Pauling. Elaborată în 1959 și publicată în 1961 (11), ea a fost rodul dezvoltării chimiei structurale, care a determinat pe de o parte cunoașterea structurii umane, iar pe de altă parte explicarea fenomenelor fiziologice cu ajutorul termenilor moleculari și al interacțiunii moleculare.

L. Pauling formulează această teorie plecînd de la următoarele date referitoare la starea de cunoștință:

Sistemul nervos dispune de două feluri de memorie, după Mc. Culloch (1948) (cit. 11):

- o memorie reflectată, efemeră;
- o memorie înmagazinată, permanentă.

După Jeffres (cit. 11), starea de cunoștință, ca și memoria efemeră implică oscilații electrice în creier, în timp ce memoria permanentă implică o înregistrare materială, în parte moștenită de organism, iar în parte transferată celulei nervoase de la modelul electric al memoriei efemere. Oscilațiile care se manifestă de o manieră grosieră pe traseul E.E.G. depind de starea de cunoștință și de activitatea encefalică a substratului, adică de mecanismul stimulant și de mediul material în care se propagă. Mediul material este creierul cu celulele de susținere sau nevrogliile, celulele specializate sau neuronii și conexiunile dintre neuroni sau sinapse.

Energia medie a oscilațiilor electrice este determinată de: activitatea mecanismului excitator, pe de o parte, și de rezistența rețelei nervoase, pe de altă parte.

O pierdere de cunoștință, ca cea care survine în timpul somnului sau în timpul narcozei, este rezultatul fie al unei diminuări a activității mecanis-

mului stimulant, fie al unei creșteri a impedenței rețelei de conductori, fie al acțiunii conjugate a acestor doi factori.

Prin urmare, aici trebuie căutat locul și mecanismul de acțiune a substanței anestezice.

Teoria moleculară, biocristalografică, a fost enunțată ca fiind valabilă pentru un grup de substanțe numite „anestezice fizice neformatoare de legături de hidrogen”, dintre care cităm:

Argonul	Ar
Xenonul	Xe
Azotul	$N \equiv N$
Protoxidul de azot	$N \equiv N - \cdots - O$
Anhidrida carbonică	$O = C = O$
Cloroformul	$\begin{array}{c} H \quad Cl \\ \diagdown \quad / \\ C \\ / \quad \diagdown \\ Cl \quad Cl \end{array}$
Etilena	$\begin{array}{c} H \quad \quad H \\ \diagdown \quad / \\ C = C \\ / \quad \diagdown \\ H \quad \quad H \end{array}$
Fluotanul	$\begin{array}{c} F \quad Br \\ \quad \\ F - C - C - Cl \\ \quad \\ F \quad H \end{array}$
Ciclopropanul	$\begin{array}{c} H \quad H \\ \quad \\ H - C - C - H \\ \diagdown \quad / \\ C \\ / \quad \diagdown \\ H \quad H \end{array}$

Ea admite că aceste substanțe au proprietatea comună de a forma monocristale hidratate în mod special în regiunile sinaptice ale creierului, perturbând astfel transmiterea influxului nervos.

Deci, caracteristic pentru substanțele anestezice este aptitudinea de a forma hidrați, iar acțiunea narcotică este consecința configurației cristaline.

Explicarea formării hidrateristalelor a fost dată în 1948 de H. M. Powell (10, 11), prin demonstrarea existenței unei rețele de legături de hidrogen, care delimitează spații goale ce sînt ocupate de moleculele altei substanțe, de unde și numele de clatrați. Stabilitatea acestor cristale se datorește legăturilor de hidrogen și forțelor Van der Waals. Legătura de hidrogen a moleculelor de apă este întrucîtva similară cu cea din gheața ordinară, cu diferența că ele delimitează cavități mai mari, în care pot fi cuprinse alte molecule.

În figurile ce urmează sînt reprezentați:
 — hidratul cristalin de Xenon, care este un dodecaedru pentagonal (fig. XVIII, 3);

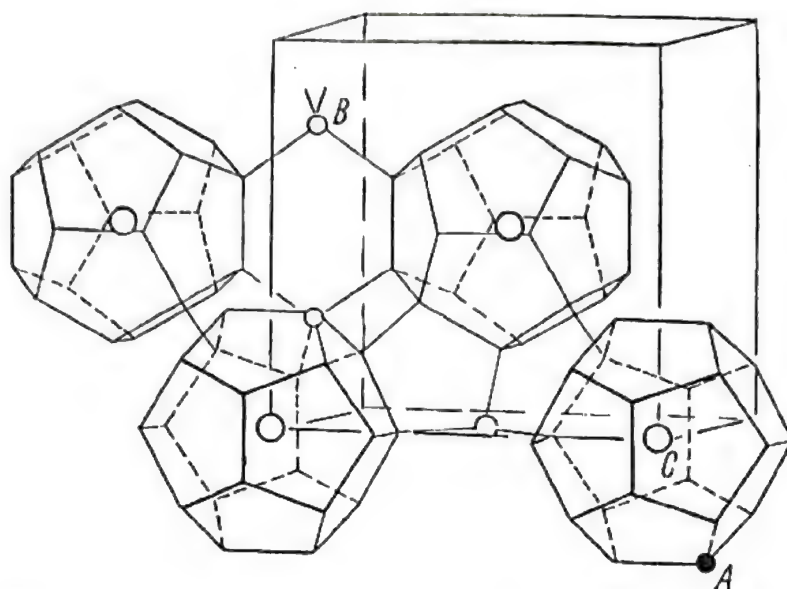


Fig. XVIII, 3. Structura hidratului cristalin de Xenon. Sînt reprezentate moleculele de apă ce formează dodecaedrul pentagonal (A) și cele ce asigură legătura dintre acestea (B). Atomii de Xenon sînt plasați în centrul fiecărui dodecaedru (C) (după Kupfer).

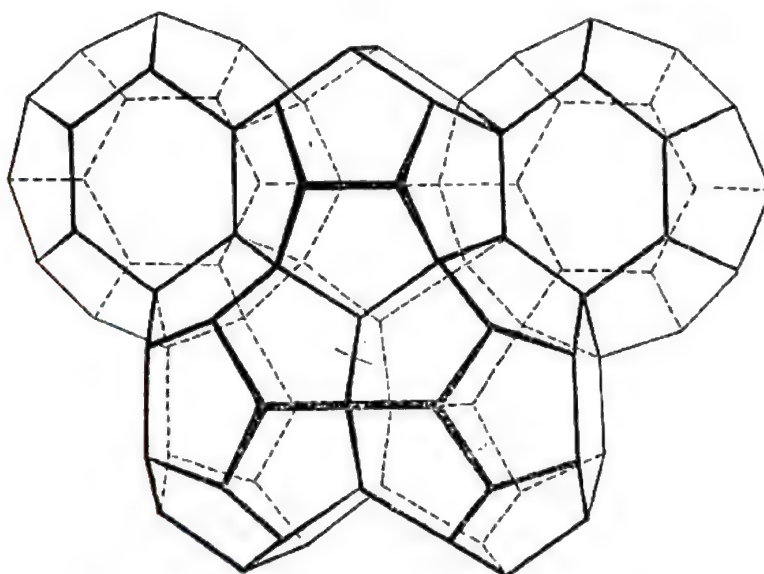


Fig. XVIII, 4. Structura tetradecaedrului. Alături de un dodecaedru în centru — sînt reprezentate două tetradecaedre; această formă cristalină este stabilizată de molecule mai mari decît cele de Xenon (după Pauling).

— tetradecaedrul (cristal cu 14 fețe), care delimitează o cavitate mai mare, ce poate fi ocupată de molecule mai mari (clor, brom) (fig. XVIII, 4);

— hexacaidecaedrul, o structură care poate găzdui molecule și mai mari, ca cea de cloroform (fig. XVIII, 5).

Aceste forme se asociază. Dacă spațiile delimitate de moleculele de apă sînt ocupate de 2 substanțe diferite, stabilitatea termică a hidrateristalului crește. De exemplu, hidratul de cloroform se descompune în apă și cloroform lichid la 2° . Temperatura de descompunere este ridicată la $14,7^\circ$ prin ocuparea dodecaedrelor alăturate de molecule de xenon.

O creștere similară cu $5-20^\circ$ în temperatura de descompunere a hidrat-cristalelor de cloroform, fluotan (P. Van der Heem) (5) se obține folosind ca agent stabilizator hidrogenul sulfurat. Această stabilizare se datorește forțelor Van der Waals.

Apa joacă deci un rol fundamental în acest fenomen, căci ea participă, împreună cu moleculele de gaz, la formarea acestor hidrați moleculari sau cristalihidrați, datorită faptului că moleculele acestui lichid se asociază, adică se unesc între ele prin forțe de atracție slabe; această asociere se datorește formării unor legături de un tip special între molecule, prin intermediul atomilor de hidrogen (fig. XVIII, 6).

Energia legăturii de hidrogen, de 4,5 kcal/mol, este mult mai mică decât energia legăturii covalente dintre oxigen și hidrogen, care are o valoare de 100 kcal/mol.

Aranjarea spațială a moleculelor de apă — datorită legăturilor de hidrogen — și stabilită de L. Pauling cu ajutorul spectrelor de raze Röntgen ale cristalelor de gheață reprezintă o structură foarte afînată. Fiecare moleculă este înconjurată de alte patru (număr de coordinație 4), orientate după vîrfurile unui tetraedru regulat (fig. XVIII, 7). Această construcție tetraedrică regulată a apei este stabilă numai la temperatură foarte joasă (-183°), în care toate moleculele sînt unite prin legături de hidrogen; la o temperatură mai înaltă, o parte din legături se desfac din cauza mișcărilor termice ale moleculelor. Se apreciază că în apropierea punctului de topire sînt desfăcute 15% iar la 40° aproape jumătate; la trecerea în stare de vapori sînt desfăcute toate legăturile de hidrogen.

În figura XVIII, 8 avem notate în partea stîngă molecule ce pot forma cristalihidrați, iar în partea dreaptă, sînt notate aceleași grupări nepolare, în componența unor acizi aminați.

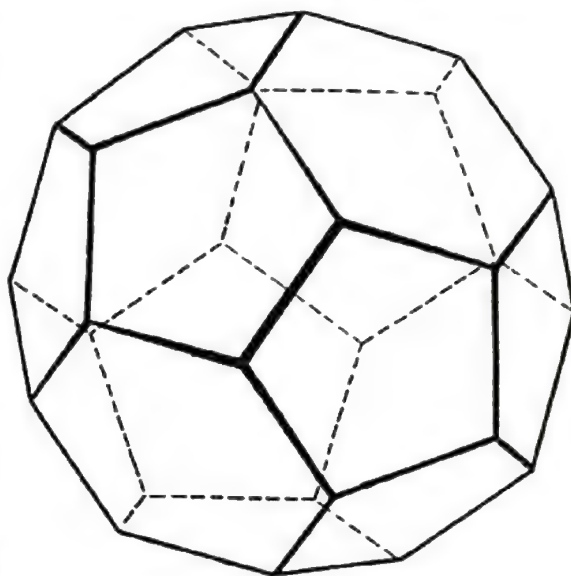


Fig. XVIII, 5. Structura hexacaidecaedrului (după Pauling).

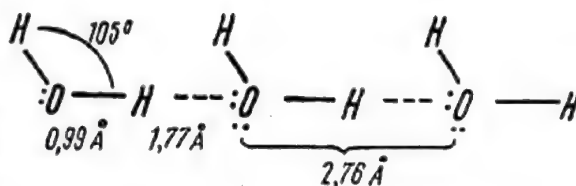


Fig. XVIII, 6. Asocierea moleculelor apei prin legături de hidrogen.

Transpunând aceste date în mediul biologic, putem considera că grupe hidrofobe (ca $-\text{SH}$, sau $\text{R}-\text{CH}_3$) induc o stabilizare a moleculelor de apă din vecinătate, provocând o organizare cristalină; putem astfel concepe că porțiuni reactive ale moleculei proteice înconjurate de un mediu rigid de molecule de apă sînt sustrate și nu mai pot participa la reacțiile metabolice.

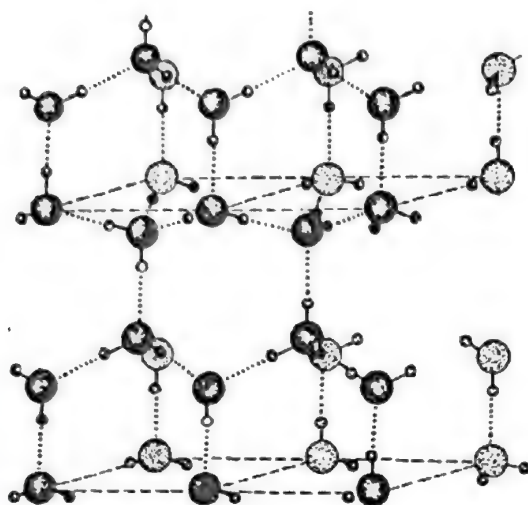


Fig. XVIII, 7. Aranjarea moleculelor de apă în cristallul de gheață (după Pauling).

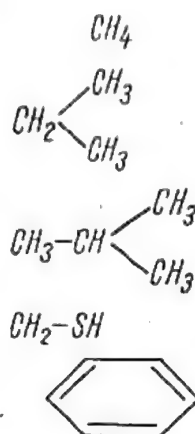
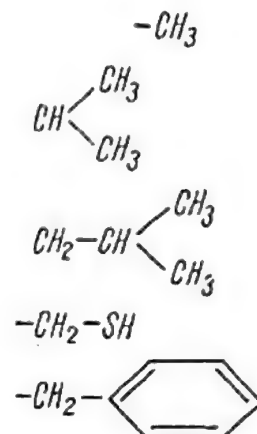


Fig. XVIII, 8. Molecule formatoare de cristalihidrați în componența unor acizi aminați.



Aceste date constituie premisele teoriei lui L. Pauling, din care cităm: „structura hidratului cristalin de alkilamoniu are o structură asemănătoare cu a hidratului de xenon; acești cristalihidrați se descompun (se topesc) în jurul a 25° . Conțin camere dodecaedrice ce pot fi ocupate de molecule de xenon, care îi vor putea stabiliza în așa măsură, încît temperatura de descompunere crește în jurul valorii de 37° , temperatura corpului omenesc. Ionii de alkilamoniu se aseamănă cu substanțele ce sînt în mod normal în creier, în aminoacizi. Astfel, acești aminoacizi formează microcristalihidrați, atunci cînd creierul este răcit sau se formează la temperatură normală prin încorporarea agenților anestezici. Aceste microcristale interferează cu mișcarea ionilor sau cu sarcinile electrice ale lanțurilor laterale ale proteinelor care contribuie în mod normal la oscilațiile electrice pe care le comportă starea de cunoștință și memoria efemeră, reducînd amplitudinea lor suficient, pentru a produce pierderea cunoștinței sau au acest efect prin interferarea unor reacții chimice implicate în oscilația electrică, prin blocarea regiunii active a moleculei enzimei”.

Dezvoltînd și generalizînd teoria moleculară, D. Kupfer — D. Tsoucaris și G. Tsoucaris (7, 8) afirmă că și anestezicele care formează legături de hidrogen pot perturba structura mediului apos din proximitatea grupării active a enzimei, printr-un mecanism dublu, în care intervin pe rînd grupările polare și grupările nepolare (fig. XVIII, 9).

O serie de fapte experimentale se corelează cu această afirmație:

1. Toate anestezicele formatoare de legături de hidrogen au una sau mai multe grupări nepolare, deci pot acționa drept *agenți stabilizatori* în formarea

microcristalelor. Prin suprimarea acestor grupări nepolare se abolește activitatea anestezică.

2. Barbituricele asimetrice (RR_1) au în general o acțiune superioară față de corespondenții simetrici, căci prezența a două grupări nepolare diferite stabilizează structura apei. Acest fapt concordă cu efectul sinergic dat de asocierea a două anestezice și cu faptul că hidrații ce conțin molecule diferite sînt mai stabili decît hidrații fiecărei molecule în parte.

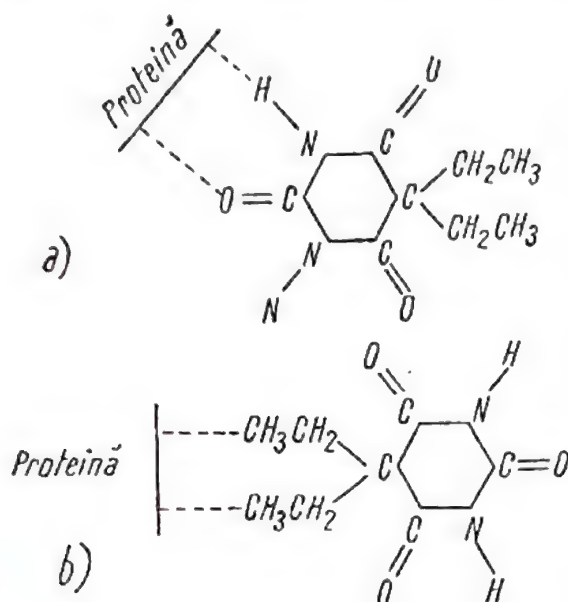


Fig. XVIII, 9. Posibilități de reacție a barbituricelor (după Kupfer-Tsucaris).

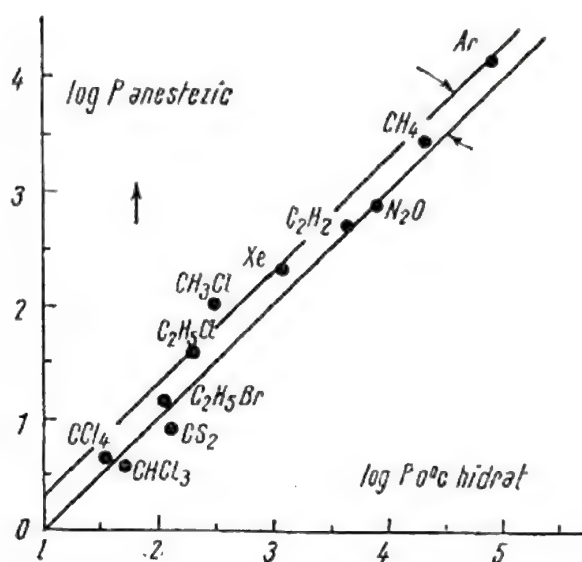


Fig. XVIII, 10. Diagrama logaritmică a presiunii parțiale anestezice și a presiunii parțiale de echilibru a hidratcristalelor (după Pauling).

Prin urmare, structura apei, care reprezintă aproximativ 78% din compoziția creierului, este modificată de prezența substanțelor anestezice neformatoare de legături de hidrogen (L. Pauling) și de a celor formatoare de legături de hidrogen, dar care au în compoziție grupări nepolare (D. Kupfer) în cristale de hidrați, care sînt stabili la temperatura de 37° prin intervenția agenților stabilizatori reprezentați de lanțurile laterale ale proteinelor și de ioni și moleculele dizolvate în lichidul encefalic. În acest fel, libertatea de mișcare a acestor ioni și molecule și deci participarea lor la oscilațiile electrice sînt modificate. Acest fapt poate avea mai multe consecințe:

1. Rezistivitatea mediului celular este considerabil crescută, în special în regiunile sinaptice, în urma formării de microcristale;

2. Activitatea catalitică a enzimelor poate fi redusă în vecinătatea acestor microcristale;

3. În sfîrșit, mai multe reacții chimice sînt împiedicate datorită faptului că anumite molecule sau ioni sînt reținuți în interiorul cavităților clatraților și sînt astfel sustrași mediului reacțional. Rezultă deci o scădere a nivelului electric pînă la acela care caracterizează anestezia.

Eliminarea progresivă a anestezicului la sfârșitul operației antrenează o scădere a presiunii parțiale, deci solvarea microcristalelor, restabilirea propagării normale a influxului nervos și revenirea stării de cunoștință.

În sprijinul acestei explicații L. Pauling dă următoarele argumente (fig. XVIII, 10):

— Există o corelație frapantă între presiunea parțială anestezică și presiunea de formare a cristalelor de hidrați. Din grafic vedem că stabilitatea

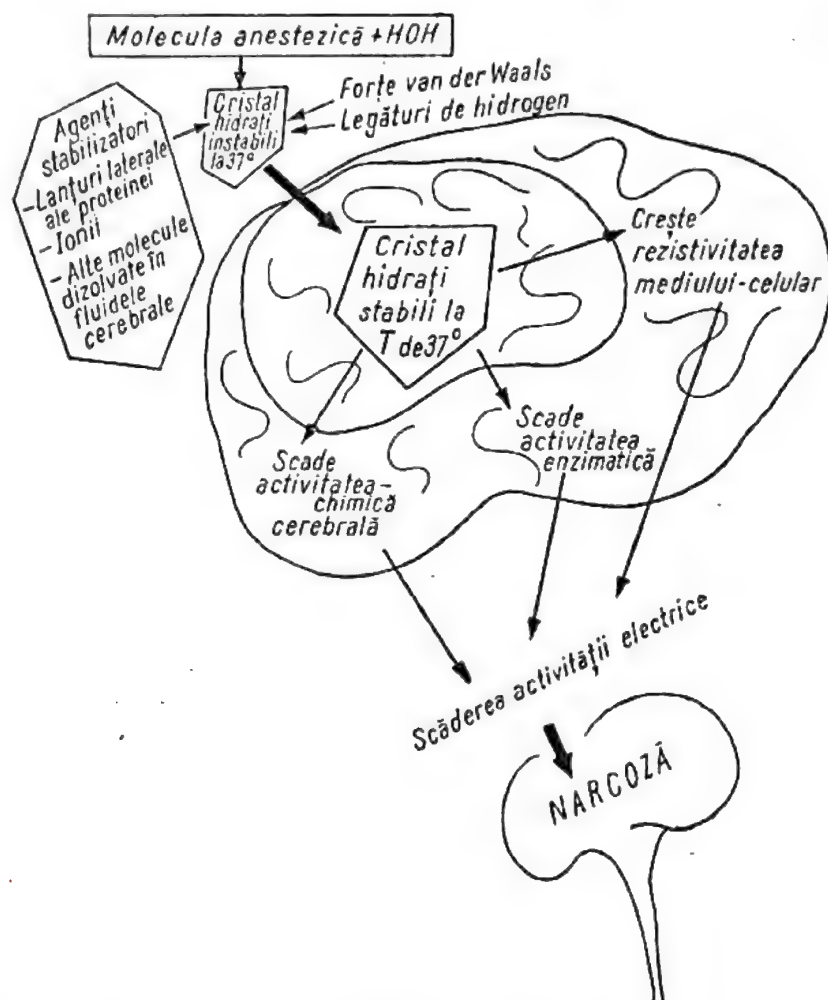


Fig. XVIII, 11. Reprezentarea schematică a teoriei moleculare a narcozei.

cristalelor de hidrați, exprimată prin log, presiunii de apă, este proporțională cu activitatea anestezică, exprimată prin log. presiunii de gaz necesară anesteziei.

— În teoria moleculară, contrar teoriei lipidice, intervine numai faza apoasă, care conține ioni și proteinele ce au lanțurile laterale încărcate electric; acestea sînt implicate în oscilațiile electrice care caracterizează starea de conștiință.

— Există o corelație între anumite proprietăți fizice ale acestor hidrați și anumite constatări clinice:

a) pe plan fizic: stabilitatea hidraților crește atunci cind temperatura este scăzută;

b) pe plan clinic: hibernarea artificială poate să ducă la o pierdere de cunoștință, datorită formării hidraților în urma scăderii temperaturii.

Pe plan fizic, două substanțe anestezice pot coopera pentru a crește stabilitatea unui hidrat, iar pe plan clinic, se știe că folosirea simultană a două anestezice potențează efectul lor (calitatea somnului anestezic este crescută) (fig. XVIII, 11).

În concluzie, teoria moleculară cristalografică a narcozei [care admite că molecula anestezică, în contact cu apa, datorită legăturilor de hidrogen și forțelor Van der Waals și prezenței agenților stabilizatori (ioni, molecule, lanțuri laterale ale proteinelor) formează cristalhidrați stabili la 37°, care produc o scădere a activității electrice printr-un triplu mecanism și deci narcoză] are originalitatea de a fi unit concepției biologice, și cristalografice și prin aceasta de a arăta locul din ce în ce mai mare, pe care biologia moleculară îl are în știința modernă.

B. ASPECTE DE FARMACOGENETICĂ ÎN ANESTEZIE

Farmacogenetica este o preocupare relativ recentă. Ea se ocupă cu modificările ereditare ale răspunsului organismului la administrarea convențională a unui drog convențional. Sfera farmacogeneticii este mare, pentru că toate formele vieții sînt expuse la variații genetice și sînt capabile să răspundă la droguri sau substanțe chimice.

În această expunere dorim să reamintim principalele anomalii ale reacției individuale de origine genetică față de cîteva substanțe folosite în anestezie.

VARIABILITATEA COLINESTERAZEI

Există două enzime distincte:

1. Colinesteraza adevărată (colinesteraza specifică, acetilcolinesterază), care se găsește în hematii și în țesutul nervos, avînd rolul de inactivare a acetilcolinei.

2. Pseudocolinesteraza (serică, nespecifică, acilcolinacilhidrolază), care se găsește în plasmă și țesuturi (în afară de cel nervos). Sintetizată în ficat, nu i se cunoaște adevăratul rol fiziologic și absența ei totală este compatibilă cu viața. Lehmann și Liddell (1962, cit. 6) sugerează că ea hidrolizează acetilcolina atunci cînd concentrația ei atinge un asemenea nivel încît inhibează colinesteraza, care are o concentrație de substrat optimă.

Importanța pseudocolinesterazei este farmacologică și rezidă în faptul că ea hidrolizează două grupuri de medicamente care au o utilizare largă în anestezie:

1. Succinilcolina (succinilester de colină);
2. Procaina (ester al acidului benzoic).

Succinilcolina este o curară acetilcolinomimetică care produce un blocaj prin depolarizarea joncțiunii mioneurale; durata ei este limitată la 3—5 minute, deoarece este hidrolizată de pseudocolinesterază.

Amintim că succinilcolina este utilizată larg în anestezie, practic de fiecare dată când se efectuează intubația traheală. Se obține o paralizie a musculaturii striate cu apnee, care facilitează intubația; bolnavul este ventilat 3—5 minute, după care își reia respirația spontană.

Uneori se întâlnesc răspunsuri aberante de „apnee prelungită” după succinilcolină. Această paralizie se explică prin defecte calitative (genetice) sau cantitative (cîștigate) ale pseudocolinesterazei. În aceste cazuri, succinilcolina nu mai este hidrolizată și se instalează o paralizie musculară cu apnee anormal prelungită.

Enzima atipică diferă de cea uzuală prin următoarele:

— ea este mai puțin activă în procesul de hidroliză a unui număr mare de substraturi, inclusiv succinilcolina;

— ea este mai rezistentă decît enzima uzuală la inhibitorii de colinesterază.

Pentru a putea efectua clinic diferențierea indivizilor cu enzimă tipică de cei cu enzimă atipică se folosește testul de inhibiție, utilizînd ca inhibitori două substanțe: dibucaina și fluorura de sodiu.

Procentele de inhibiție reprezintă numărul de dibucaină (DN) și numărul de fluor (FN).

Pe baza numărului de dibucaină, Kallow și Staron împart populația în trei grupe:

DN	Genetica	Frecvența (%)
80	Homozigoti normali	97
62	Heterozigoti	3
20	Homozigoti atipici	0,03

Nu toate cazurile au putut fi clasate cu ajutorul DN. Folosind ca inhibitor fluorura de sodiu, s-a găsit un alt tip de pseudocolinesterază moștenită.

În sfîrșit, sînt familii fără activitate colinesterazică.

S-a stabilit astfel că există patru gene-alele care controlează transmiterea ereditară a pseudocolinesterazei, pentru care, la al V-lea Simpozion internațional de genetică, din 1963, s-a propus următoarea terminologie (fig. XVIII, 12):

E_1^U — pentru gena responsabilă de formarea colinesterazei normale, uzuale.

E_1^a — pentru gena responsabilă de formarea colinesterazei atipice.

E_1^r — pentru gena responsabilă de formarea colinesterazei rezistente la inhibiția fluorului.

E_1^s — pentru gena responsabilă de absența enzimei.

Ele vor putea da naștere la patru homozigoti și la 16 heterozigoti, cu următorul genotip (fig. XVIII, 12):

Cele subliniate prezintă riscul de apnee prelungită la administrarea de succinilcolină; în practică, acesta este un risc foarte mare.

Incidența și distribuția ereditară a variantelor de pseudocolinesterază este prezentată în figura XVIII, 13.

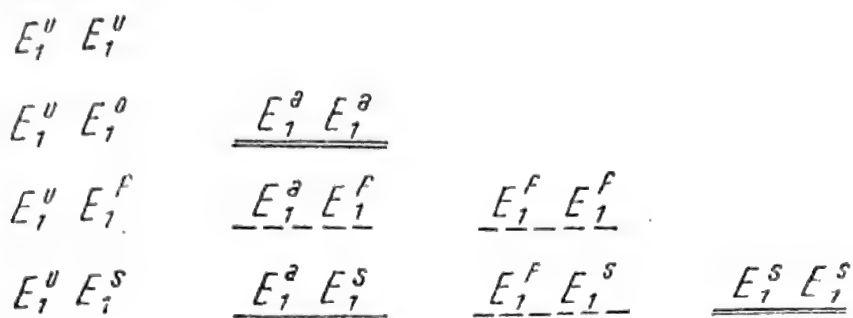


Fig. XVIII, 12. Genotipul pseudocolinesterazei (după Kalow).

INCIDENȚA ȘI REPARTIȚIA VARIANTELOR EREDITARE DE PSEUDOCOLINESTERAZĂ

Genotip	Fenotip	Incidența	Enzima	Răspuns la succinilcolină	D. N. (normal 80)	F. N. (normal 60)
Homoziгоți						
$E_1^u E_1^u$	U	1 : 1	Uzuală	N	80	60
$E_1^a E_1^a$	A	1 : 2 500	Atipică	++++	20	20
$E_1^s E_1^s$	S	1 : 100 000	Fără activitate	++++	—	—
$E_1^f E_1^f$	F	Foarte rar		++	70	30
Heterozigoți						
$E_1^u E_1^u$	I	1 : 25	Amestec	+	60	45
$E_1^u E_1^f$	UF	—	Amestec	+	75	50
$E_1^a E_1^f$	IF	—	Amestec	++	45	35
$E_1^u E_1^s$	U	1 : 200	Uzuală	+	80	60
			Activitate scăzută			
$E_1^a E_1^s$	A	1 : 8 000	Atipică	++++	20	20
$E_1^f E_1^s$	F	—	Neînțilnită	—	—	—

Fig. XVIII, 13. Incidența și repartiția variantelor de pseudocolinesterază (după Leacock, citat de Kalow).

În ceea ce privește heterozigoții, pentru esteraza atipică (fenotip $E_1^u E_1^a$), frecvența la diverse populații este:

TABELUL XVIII, 2

Populația	Nr. cazuri cercetate	Nr. heterozigoți	Proporție %
Canadieni	2 017	74	3,8
Britanici	703	24	3,8
Germani	118	4	3,4
Cehoslovaci	87	7	8,5
Greci	360	13	3,6

Importanța clinică a genotipului de colinesterază rezidă în faptul că două droguri cu utilizare clinică foarte largă sînt distruse de colinesterază: acestea sînt procaina și succinilcolina. În prezența esterazei atipice, hidroliza ambelor medicamente este întîrziată. Cu toate acestea, frecvența accidentelor fatale este mult mai mare pentru succinilcolină. Motivul principal pare să fie utilizarea clinică diferită a acestor două droguri:

— procaina este obișnuit injectată în țesuturi în locul în care dorim să obținem acțiunea. Deoarece cel mai eficient mijloc de a-i prelungi acțiunea este adăugarea de vasoconstrictoare, este evident că absorbția locală influențează durata de acțiune mult mai decisiv, decît conversiunea metabolică; chiar un ritm lent de metabolizare poate fi adecvat atît timp, cît drogul pătrunde în sînge într-un ritm lent;

— prin contrast, succinilcolina este injectată intravenos. Cea mai mare parte din cantitatea injectată, adică 90—95%, este distrusă într-un interval de 1 minut după injecție (6). Prin urmare, numai o fracțiune din doză ajunge la placa neuromusculară unde drogul acționează și de unde treptat se risipește în mediul ambiant. Dacă există o insuficiență de activitate esterazică, joncțiunea neuromusculară va fi inundată cu molecule de succinilcolină.

Dispersia acestei concentrații mari de la nivelul plăcii neuromusculare cere timp și aceasta explică efectul prelungit. Pentru persoanele cu esterază atipică (genotip $E_1^a E_1^a$) s-a stabilit curba doză-efect pentru succinilcolină.

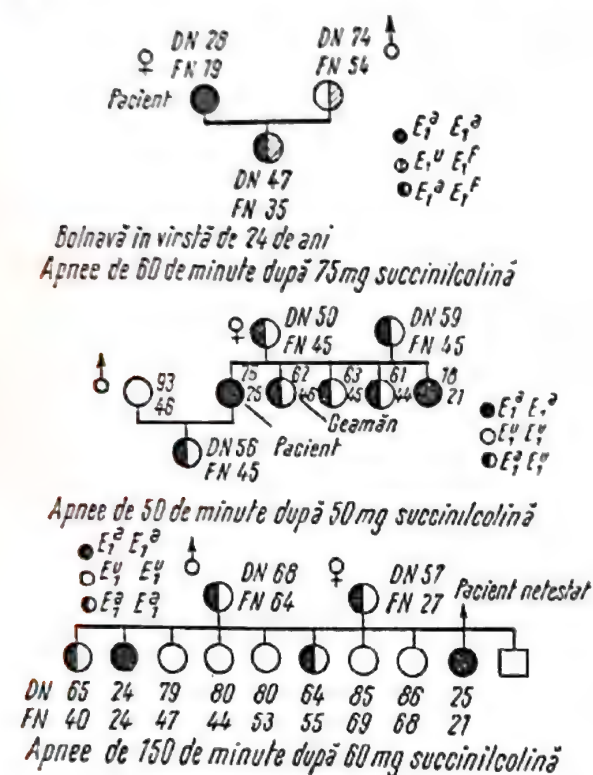
După 100 mg, apneea completă durează între 50 și 65 de minute; o perioadă dublă sau triplă trece pînă ce respirația spontană este adecvată.

Faptul că procaina și succinilcolina sînt hidrolizate de aceeași enzimă, explică potențarea reciprocă: procaina este hidrolizată de pseudocolinesterază preferențial față de succinilcolină.

Pentru exemplificare vom prezenta arborele genealogic al unor bolnavi care au prezentat apnee prelungită după administrare de succinilcolină (fig. XVIII, 14).

Fig. XVIII, 14. Arborele genealogic al unor bolnavi cu apnee prelungită după succinilcolină (după Mone, Mathie).

Reducerea cantitativă a pseudocolinesterazei care se întîlnește după compuși organofosforici (Thio-Tepa, diizopropil-fluorofosfat) și în insuficiențe hepatice este semnificativă și poate fi cauza unor apnei prelungite (fig. XVIII, 15).



Tratamentul apneei prelungite, cauzate de succinilcolină, este bine codificat și reclamat:

1. controlul ventilației cu amestec de protoxid de azot + oxigen (Wickers, Churchill-Davidson, Katz) (cit. Mone), urmărind menținerea în limite normale a pH-ului și a PCO_2 ;

2. aport enzimatic prin administrarea de plasmă dublu concentrată, care aduce o cantitate mai mare de enzimă fără aportul excesiv de apă. Sângele conservat păstrează 80% din activitatea pseudocolinesterazei după 25 de zile de conservare la 6°, iar plasma uscată resuspendată între 40 și 70%.

Valoarea creșterii nivelului enzimatic în scurtarea perioadei de apnee, o dată instalată, este controversată. Unii autori consideră că instituirea transfuziei înainte de succinilcolină la bolnavii cu risc va scurta apneea, dar instituirea în timpul apneei nu are efect. Alții atribuie o valoare transfuziei de sânge sau plasmă, prin ameliorarea fluxului sanguin muscular.

HIPERTERMIA — REACȚIE FAMILIALĂ LA ANESTEZICE GENERALE

În 1962, M. A. Denborough și colab. (3) au comunicat apariția unei hipertermii, urmată de deces, în urma unei anestezii generale la mai mulți din membrii unei familii. Ei insistă asupra faptului că operațiile au fost minore și că s-au terminat bine; de asemenea nu a existat un supradozaj în cursul anesteziei, subliniind că din 38 de rude care au avut o anestezie generală, 10 au decedat într-un tablou convulsiv și cu hipertermie.

În 1969, Thomford (14) analizează un caz personal și altele 11 culese din literatură. În fiecare din aceste cazuri hipertermia acută nu a putut fi atribuită tireotoxicozei, septicemiei sau substanțelor pirogene, factorilor de mediu sau altor cauze de febră la bolnavii chirurgicali. Fiziopatologia acestor accidente familiale este necunoscută, dar combinația dintre hiperpirexie și contracție musculară toracică sugerează o tulburare genetică subclinică a sistemului neuromuscular.

Am amintit acest sindrom pentru a sublinia importanța cunoașterii antecedentelor familiale înainte de orice anestezie (fig. XVIII, 16).

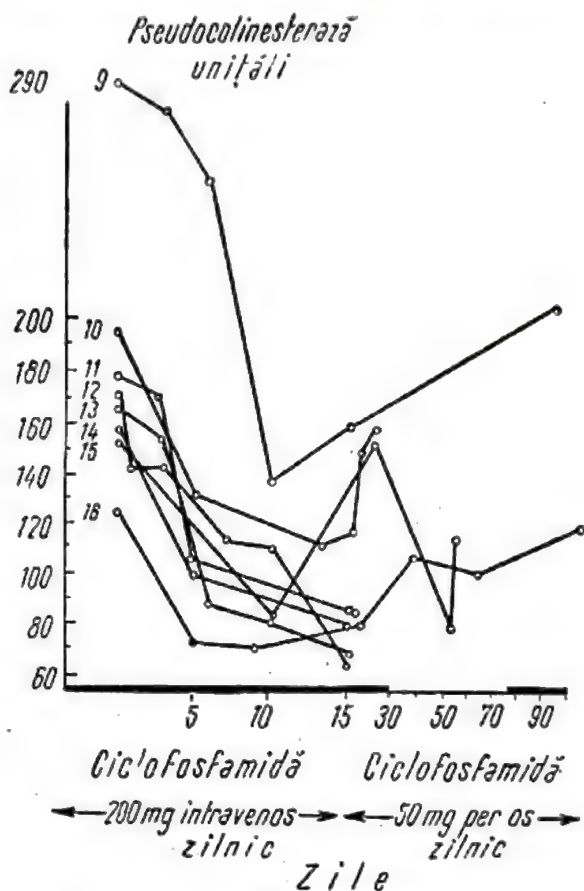
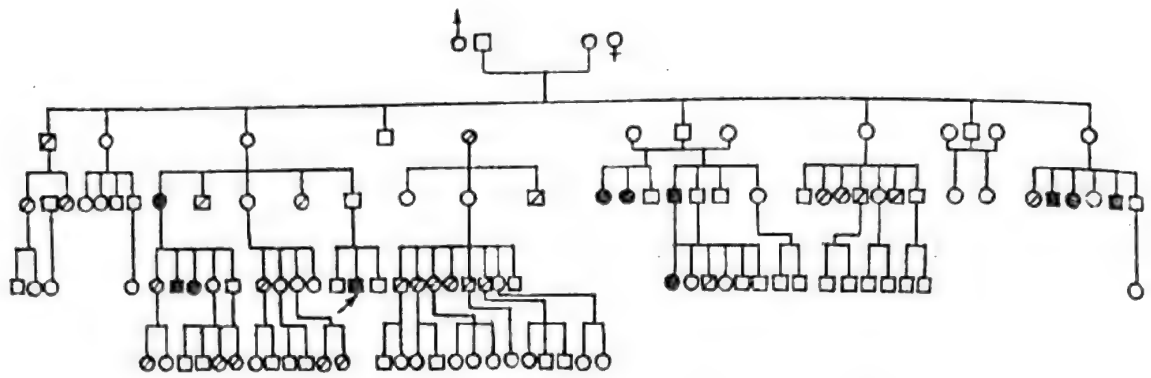
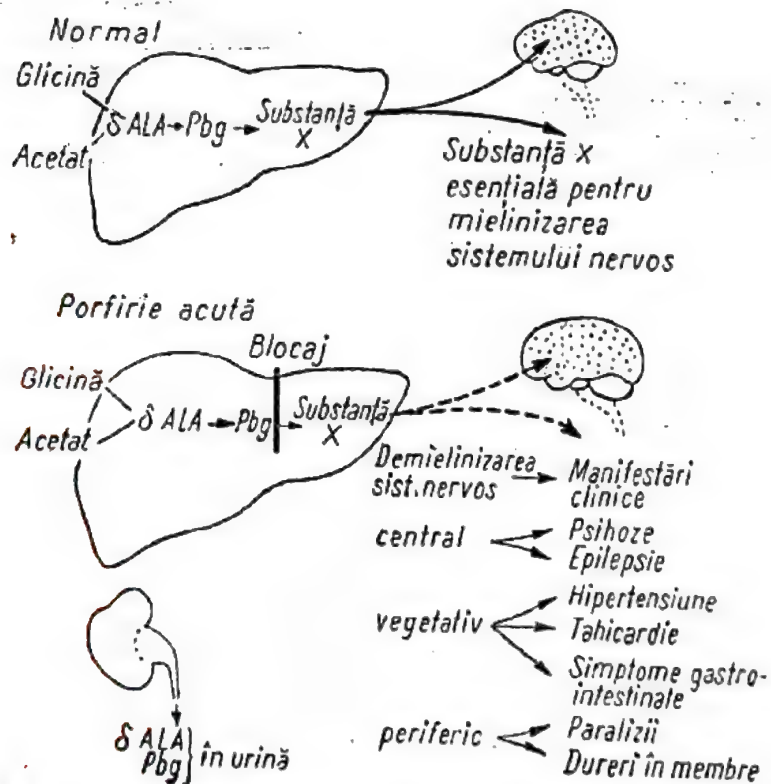


Fig. XVIII, 15. Scăderea pseudocolinesterazei după tratament cu ciclofosfamidă (după Mone, Mathie).



- Pacient
- ◐ Decedat în timpul anesteziei generale
- ◑ Fără reacție la anestezie generală
- Neanesteziați

Fig. XVIII, 16. Arborele genealogic al unei familii în care au survenit decese prin hipertermie după anestezie.



δ ALA Aminolevulic acid Pbg = Porfirobilinogen

Fig. XVIII, 17. Patogeneza porfiriei acute (după Goldberg, citat de Kalow).

PORFIRIA ACUTĂ INTERMITENTĂ

Deși riscul administrării barbituricelor la bolnavii de porfirie este cunoscut, totuși, au fost înregistrate cazuri fatale. Există mai multe forme de porfirie. Afecțiunea importantă în acest context este *porfiria acută intermitentă*.

În patogeneza acestei boli apare un blocaj enzimatic hepatic în reacția de transformare a porfobilinogenului în substanța X esențială în procesul de mielinizare a sistemului nervos (fig. XVIII, 17).

Leziunile de demielinizare pot interesa sistemul nervos central, sistemul nervos vegetativ sau nervii periferici.

Afectarea sistemului nervos central provoacă psihoze, a celui vegetativ un sindrom abdominal acut dureros, care poate decide în lipsa diagnosticului o explorare chirurgicală, iar afectarea sistemului nervos periferic provoacă pareze și tulburări de sensibilitate (fig. XVIII, 18).

Diagnosticul se stabilește prin prezența porfobilinogenului în urină.

Incidența bolii la bolnavii chirurgicali este, după Ward (cit. 6) de 1,5 la 100 000 în Suedia, 1 la 100 în Africa. La 16 000 operați, Petrila și colab. (2) au avut 3 cazuri. Pe o statistică din literatură, Dundee și Ridin au găsit pe o perioadă de 5 ani, 32 de bolnavi de porfirie, din care 5 au murit pe masa de operație.

Bolnavul poate fi asimptomatic mulți ani, uneori toată viața. Manifestarea clinică poate să apară oricând. Ea poate fi însă declanșată atunci când se administrează barbiturice, astfel că un bolnav aparent cu o stare generală bună se poate afla brusc în pericol de moarte datorită unei anestezii, în timpul căreia i se administrează barbiturice. Paralizii induse în acest mod duc la insuficiență respiratorie. Criza de porfirie mai poate fi declanșată de analgeticele din grupul acetanilidei și de sulfamide.

Examenul clinic și de laborator și o anamneză riguroasă personală și familială, înainte de o anestezie generală, sînt elemente obligatorii.

Desigur că și alte aspecte de farmacogenetică pot interfera cu anestezia prin terapia preoperatorie sau de reanimare.

Am prezentat două aspecte care se interferează cu drogurile ce au cea mai largă utilizare în anestezie, pentru a sublinia importanța ce o are depistarea anomaliilor, nu numai pentru anestezia prevăzută, dar și pentru evitarea accidentelor în timpul unei anestezii ulterioare. De aceea, o dată anomalia depistată, bolnavul trebuie prevenit.

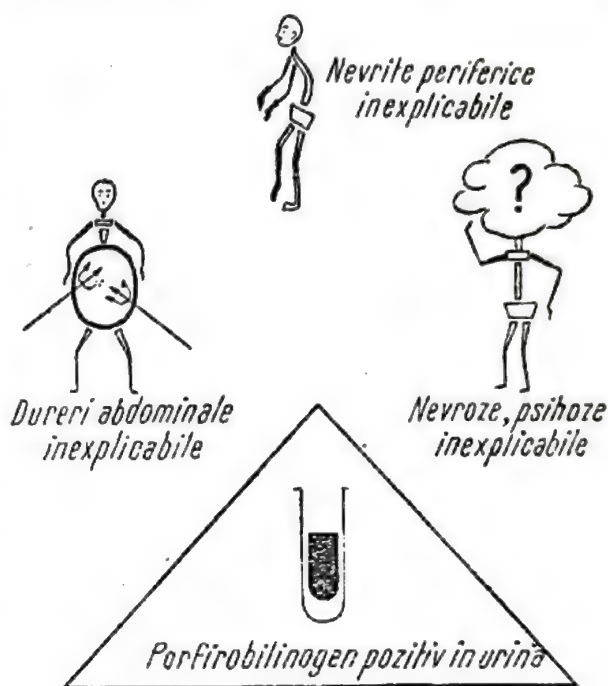


Fig. XVIII, 18. Schema de diagnostic a porfiriei acute (după Goldberg, citat de Kalow).

BIBLIOGRAFIE

1. Bouchet du N., Brigand le J. — *Anesthésie Réanimation*, Ed. Flammarion, Paris, 1957.
2. Cristea I., Litarczek G. — *Rev. med.-chir. Iași*, 1968, 3 567.
3. Den Borough M. A., Forster J. F., Lovell R. R., Maplestone P. A. Villiers J. D. — *Brit. J. Anaesth.*, 1962, 34, 395.
4. Ernst E. A., Smith J. C. — *Anesthesiology*, 1967, 28, 1 085.
5. Heem van der P. — *Anesthesiology*, 1966, 27, 84.
6. Kalow W. — *Anesthesiology*, 1964, 25, 377.
7. Kupfer D. — *Anesth. Analg. Réanim.*, 1963, 20, 4.
8. Kupfer D., Tsoucaris D., Tsoucaris G. — *Anesth. Analg. Réanim.*, 1966, 23, 151.
9. Mone I. C., Mathie W. E. — *Anaesthesia*, 1967, 22, 1.
10. Nenițescu C. D. — *Chimie generală*, Ed. tehnică, București, 1963.
11. Pauling L. — *Anesth. et Analg.*, 1964, 43, 1.
12. Petrila T., Cristea I., Popescu D. — *Chirurgia (Buc.)*, 1968, 17, 10.
13. Saidman L. J., Havard E. S., Eger E. I. — *J. Amer. med. Ass.*, 1964, 190, 1 029.
14. Thomford, N. R., Hamelberg W. E., Wiederholt W. C. — *Surgery*, 66, 850, 1969.
15. Wall P. D. — *Anaesthesiology*, 1967, 28, 46.
16. Young T. M. — *Anaesthesia*, 1957, 12, 473.



Potrivit concepției lui Vogel, farmacogenetica reprezintă studiul variațiilor determinate genetic, care de obicei se relevă printr-un răspuns modificat la medicamente. Deși termenul nu este precis și limitele sînt arbitrare, se poate trage concluzia că el nu cuprinde modificările congenitale provocate de medicamente (alterările produse de thalidomidă) și nici încercările, încă neconcludente din punctul de vedere al rezultatelor de a modifica pe cale medicamentoasă unele perturbări genetice.

Farmacogenetica este o știință relativ nouă, s-a dezvoltat după al doilea război mondial, deși unele observații datează de mai mult. În anul 1910, Fleischmann a arătat că serul unor iepuri are proprietatea de a inactiva atropina. Ulterior s-a constatat că fenomenul se datorește prezenței unei enzime, atropinesteraza, aflată în unele seruri, dar nu în toate. În anul 1943, Sawin și Glick au demonstrat că prezența sau absența enzimei este determinată genetic.

Trebuie remarcat că majoritatea defectelor genetice relevate de medicamente au fost puse în evidență la om. Fără îndoială că și la animale există asemenea defecte, dar studiile legate de patologia umană au fost mult mai numeroase, ceea ce a dus la descoperirea deficiențelor genetice amintite cu precădere la om.

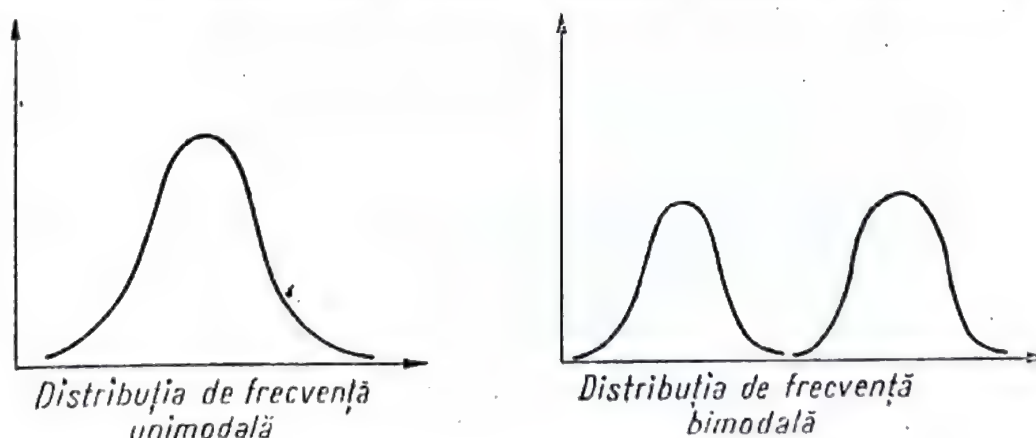


Fig. XIX, 1. Distribuția de frecvență unimodală și bimodală.

Există mai multe etape în descoperirea unui efect farmacogenetic:

a) spre deosebire de reacția mării majorități a indivizilor, care răspund în mod gradat la administrarea medicamentelor, distribuția de frecvență luând aspectul unei curbe Gauss, în prezența unui efect farmacogenetic, aspectul curbei de distribuție este bimodal, trimodal sau multimodal (fig. XIX, 1). Aceasta ne face să bănuim prezența unui efect farmacogenetic, dar nu ne dă certitudinea sa;

b) descoperirea enzimei care produce efectul anormal și care lipsește sau este anormală la indivizii deficitari;

c) descoperirea modalității de transmitere ereditară a acestui deficit; în această privință, studiile familiilor sînt hotărîtoare.

În cele ce urmează, vom prezenta cîteva din defectele farmacogenetice mai cunoscute și mai bine studiate.

I. ACATALAZIA

În anul 1946, otorinolaringologul Takahara a operat o fetiță de 11 ani de o tumoare a cavității nazale și a sinusului maxilar. După aplicarea pe suprafața sîngerîndă a apei oxigenate, el a observat că aceasta ia un aspect brun-negru și că nu apar bulele obișnuite. Takahara a bănuit că în hematiile și în mucoasa nazală a bolnavei lipsește catalaza, enzima care hidrolizează H_2O_2 . Această bănuială a fost confirmată prin studierea hematiilor bolnavei și a celor din familie. Ulterior, aceste studii au fost făcute pe scară largă. S-a arătat că în Japonia există destul de mulți indivizi care suferă fie de o lipsă totală a catalazei eritrocitare, fie că au o activitate enzimatică mai redusă decît indivizii normali.

Aproximativ 60% din persoanele studiate au prezentat o boală gangrenoasă progresivă a cavității bucale, cunoscută astăzi sub denumirea de boala Takahara. Această boală poate îmbrăca forme ușoare, mijlocii și grave, dar este în toate cazurile vindecabilă. Aproximativ 25% din acatalazici sînt asimptomatici.

S-a arătat că distribuția catalazei sanguine se face trimodal: pe lîngă subiecții normali, există indivizi acatalazici și hipocatalazici. La început, cercetările au fost efectuate numai pe hematii. Ulterior s-a demonstrat că la acatalazici, deficitul enzimatic interesează și ficatul, mușchiul, măduva osoasă, cavitatea bucală. La hipocatalazici, activitatea enzimatică a organelor amintite este mai redusă decît la normali.

În afară de Japonia, s-au mai semnalat cazuri izolate în S.U.A., Suedia, Elveția, Israel. Într-un caz, survenit la un israelit, acatalazia a fost asociată cu un deficit de glucozo-6-fosfatdehidrogenază.

S-au investigat și alți componenți sanguini în această boală. S-a arătat că peroxidaza sanguină, care este mai ales de origine leucocitară, este fie normală, fie scăzută. Cantitatea de hemoglobină, ca și aspectul său electroforetic sînt normale. Activitatea methemoglobinreductazei este normală. În schimb, este crescută formarea methemoglobinei sub influența razelor Röntgen, fenomen care nu se observă la celulele normale.

În acatalazie crește cantitatea de coproporfirine și bilirubină excretată prin urină.

Catalaza din hematii nu este de origine hepatică. Pentru aceasta pledează constatarea că administrarea de Sedormid^(R), care scade activitatea catalazei hepatice, nu influențează enzima eritocitară.

Se știe că această enzimă acționează ca și peroxidaza, în prezența unei cantități reduse de substrat.

După Theorell, catalazele și peroxidazele fac parte din același grup al hidroperoxidazelor. Catalaza nu este absolut specifică, acționând asupra altor substraturi în afară de H_2O_2 , ca peroxizii de eter, formaldehida, acidul formic, alcoolii cu greutate moleculară mică. De reținut că H_2O_2 rezultă și prin acțiunea unor enzime microbiene (pneumococ, *b. acidophilus*, unii streptococi).

După Takahara, mecanismul etiopatogenic al bolii care îi poartă numele ar fi următorul: masticția produce leziuni ale gingiilor. Prin dezvoltarea florei bacteriene, producătoare de H_2O_2 și în absența enzimei acatalază, leziunile devin gangrenoase. Boala poate fi tratată cu succes prin antibiotice și exereză chirurgicală. După cum s-a mai arătat, numai o parte din acatalazici fac boala Takahara.

Transmiterea ereditară a acestui deficit enzimatic se face autozomal-recesiv. Există trei genotipuri: homozigoți normali, homozigoți acatalazici și heterozigoți hipocatalazici. S-a constatat că la homozigoții anormali există un înalt grad de consanguinitate, ceea ce permite combinarea celor două alele anormale.

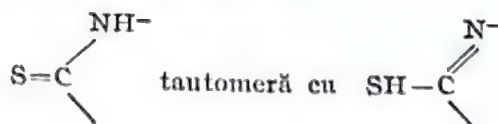
La o populație de 82 de milioane (cât avea Japonia în momentul cercetărilor de mai sus) existau 1 800 de acatalazici și 500 000 de hipocatalazici. Distribuția pe teritoriul țării nu este uniformă. S-ar putea ca japonezii să fi primit gena din Coreea, cu mult timp în urmă.

În Elveția s-au studiat puține cazuri. Frecvența pare să fie de 26 de ori mai mare ca în Japonia, dar toate cazurile au fost asimptomatice. Cercetări mai noi par să evidențieze o eterogenitate genetică și mai mare. S-au descris 5 tipuri de deficit în catalază. Explicațiile acestei eterogenități sînt cu totul ipotetice.

Este interesant de observat că și la câini și la cobai s-au descris deficite de catalază, cu totul similare celor observate la om, fără ca sănătatea lor să fie afectată.

II. POLIMORFISMUL GUSTULUI PENTRU MEDICAMENTE

S-a observat că dacă se pune un cristal de feniltiouree (feniltiocarbamidă; PTC) pe limbă, unele persoane simt un gust amar, neplăcut, iar altele nu au nici o senzație gustativă. S-a arătat că și alte substanțe, ca derivații de tiouracil și tiopentalul prezintă același fenomen. S-a ajuns la concluzia că gruparea chimică responsabilă pentru gustul amar este:



Persoanele care posedă gust pentru PTC și substanțele înrudite posedă o genă dominantă autozomală, care lipsește celor din a doua categorie. Distribuția de frecvență este deci bimodală.

S-a demonstrat că există o legătură între starea glandei tiroide și polimorfismul gustativ. Astfel, persoanele care nu percep gustul amar al PTC se găsesc mai frecvent printre suferinzii de gușă adenomatoasă. În schimb, indivizii care simt gustul amar sînt mai frecvenți printre bolnavii de gușă toxică difuză. La atiroidieni, frecvența persoanelor care nu percep gustul este mai mare. Legătura dintre starea glandei tiroide și perceperea gustului, deși este evidentă, este greu de interpretat. S-a demonstrat că metabolismul metiltiouracilului și tiopentalului este identic la cele două categorii. Se susține că modificările biochimice care stau la baza acestui polimorfism sînt localizate la nivelul receptorilor gustativi. Frecvența persoanelor care nu percep gustul amar al PTC este variabilă (31,50% la europeni, 2,70% la africani, 10,60% la chinezi). La cimpanzei s-a descris un polimorfism gustativ similar cu frecvența de distribuție asemănătoare europenilor.

III. POLIMORFISMUL ACETILĂRII IZONIAZIDEI

Acetilarea, care se face mai ales în ficat, reprezintă principala cale de metabolizare a izoniazidei (hidrazida acidului izonicotinic). După viteza de acetilare a izoniazidei, oamenii se împart în două categorii distincte: inactivatori rapizi, inactivatori lenți. Acest polimorfism este moștenit. După unii autori, distribuția de frecvență a inactivatorilor lenți se face bimodal, după alții trimodal (cel puțin la japonezi). În primul caz ar exista numai homozi-goți anormali, în al doilea caz și heterozigoți cu valori intermediare ale acetilării. În orice caz, transmiterea se face autozomal. Frecvența inactivatorilor lenți este variabilă în diferitele părți ale globului. Astfel, printre europeni, aproximativ 50% sînt inactivatori lenți; asiaticii au numai 10%, negrii prezintă valori intermediare. De notat este faptul că același polimorfism îl prezintă persoanele și în cazul sulfamidelor și al hidrazinoftalazinelor. Dar PAS și acidul p. aminobenzoic (PABA) au o distribuție unimodală și sînt acetilate de către altă enzimă.

Proprietățile fizico-chimice ale acetilazei izoniazidei sulfamidelor și hidrazinoftalazinelor nu diferă la cele două categorii, de unde se poate presupune că diferențele semnalate sînt doar de ordin cantitativ. Cu alte cuvinte la inactivatorii lenți, este vorba de o sinteză diminuată a enzimei, deci nu există nici o diferență între eficiența terapeutică a izoniazidei la inactivatorii rapizi față de cei lenți.

Procentul celor cu leziuni nervoase periferice este semnificativ mai mare la inactivatorii lenți. După unii autori, așa s-ar explica și polinevrita semnalată uneori în urma tratamentului cu hidrazinoftalazine. Administrarea de piridoxină (vitamina B₆) conferă o protecție aproape completă contra acestor efecte secundare.

IV. PSEUDOCOLINESTERAZA SERICĂ ȘI HIPERSENSIBILITATEA LA SUCCINILCOLINĂ

Succinilcolina (succinildicolina, suxametoniu, Myorelaxin^(R)) este un miorelaxant cu mecanism de acțiune prin depolarizare, care produce la omul normal o relaxare musculară și o apnee de 2—8 minute (în majoritatea cazurilor 2—3 minute). La scurt timp după introducerea sa în practica medicală s-a observat însă că la unii subiecți, apneea și miorelaxarea durează mult mai mult (2—3 ore). Cum durata acțiunii succinilcolinei este în funcție de activitatea pseudocolinesterazei serice, s-a bănuț că în sângele persoanelor care prezintă o durată anormală a acțiunii medicamentului, activitatea enzimei este scăzută, ceea ce s-a confirmat. Trebuie reținut însă că activitatea pseudocolinesterazei serice, sintetizată în ficat, depinde de integritatea morfofuncțională a acestui organ. Scăderea activității pseudocolinesterazei se mai întâlnește în malnutriție, hiperpirexie, insuficiență cardiacă, cancere (mai ales ale colonului), uremie, catatonie.

Creșterea activității enzimatice se semnalează în obezitate, nefroză, gușă nodulară. Prin urmare, numai după excluderea cauzelor amintite ale modificării activității enzimatice se poate bănuț existența unui deficit enzimatic condiționat genetic.

Pseudocolinesteraza este o enzimă puțin specifică: ea hidrolizează o serie de esteri ai colinei (butirilcolina, propionilcolina, benzoilcolina, succinilcolina, unii esteri ai acidului benzoic, ca procaina).

În urma acțiunii catalitice a pseudocolinesterazei, succinilcolina se transformă în produsul său intermediar, succinilmonocolină, care apoi se transformă în acid succinic și colină.

Eliminându-se cauzele dobândite ale insuficienței enzimatice, s-a ajuns la concluzia că hipersensibilitatea la succinilcolină se datorește unui deficit enzimatic condiționat genetic. Transmiterea se face autozomal-recesiv. Heterozigoții nu sînt mai sensibili la succinilcolină decît homozigoții normali, dar au niveluri enzimatice ceva mai scăzute. După Kaufman și colab., nivelurile pseudocolinesterazei serice sînt următoarele: homozigoții normali mai mult de 60 u./ml (60—125 u./ml); heterozigoții 26—90 u./ml; homozigoții anormali sensibili la succinilcolină mai puțin de 35 u./ml (1 u. reprezintă cantitatea care produce 1 ml CO₂ în timp de 1 minut la 37°).

Există deci o suprapunere a valorilor enzimatice la cele trei grupuri. De aceea, de multe ori, genotipul unui bolnav nu poate fi apreciat după activitatea enzimatică. Se poate bănuț că sinteza proteinenzimei decurge cu viteză normală, dar apar enzime cu proprietăți modificate. Într-adevăr, Kalow și colab. au arătat că la homozigoții anormali, enzima normală este înlocuită cu o moleculă proteică diferită, cu activitate enzimatică redusă. Această enzimă „atipică” are o afinitate mai redusă față de unele substraturi, nu apare electroforetic și cromatografic diferită, este mai puțin sensibilă la numeroși inhibitori. Dibucaina (nupercaina) inhibă mult mai puternic enzima normală decît cea atipică.

După Kalow și Genest, o mărime caracteristică pentru enzimă, independentă de concentrația ei, este numărul de dibucaină (DN) prin care se înțelege gradul inhibiției (în procente) produs de dibucaină 10⁻⁵ M. Un alt inhi-

bitor diferențial este bromura de dimetilcarbamat de 2-hidroxi-5-fenilbenziltrimetilamoniu (RO2-0683). La concentrația de 10^{-8} M, diferențierea homozigoților normali, a celor anormali și a heterozigoților este mai exprimată decât pentru dibucaină. Deoarece dificultățile de lucru sînt mai mari, acest inhibitor nu a intrat în practica curentă. Un alt inhibitor diferențial este fluorura de sodiu. Prin numărul de fluorură (FN) se înțelege inhibiția procentuală produsă de concentrația de 5×10^{-5} M. Deoarece uneori există o discordanță între DN și FN, s-a tras concluzia că există două enzime atipice, una rezistentă la dibucaină, alta la NaF. Prin electroforeza pe gel de amidon s-a mai descoperit o altă enzimă atipică, denumită C_5 , mai activă decât enzima normală. Dar această enzimă nu are importanță clinică.

Ca o concluzie la cele spuse mai sus, se pot recunoaște șase genotipuri cu ajutorul dibucainei și a NaF: homozigoți pentru gena care determină enzima normală, homozigoți pentru enzima atipică, rezistentă la dibucaină, și homozigoți pentru enzima rezistentă la NaF, heterozigoți pentru cele 3 gene luate două câte două. Transmiterea se face autozomal-recesiv.

S-a arătat însă că există un număr redus de cazuri în care determinările enzimatice dau valori corespunzătoare homozigoților anormali, dar genotipul părinților îi indică drept heterozigoți. Această discordanță se explică prin existența unei gene „tăcute” sau „mute” (silent), care determină absența completă a activității enzimatice. Părinții aparent normali pot să fie heterozigoți pentru o genă normală și una „tăcută”, în timp ce copiii au putut să aibă o genă anormală și una tăcută. Bineînțeles că din punctul de vedere al genotipului, acești subiecți se vor comporta ca homozigoți normali. S-au descris și cazuri de homozigoți pentru genele tăcute, care se caracterizează prin absența completă a activității pseudocolinesterazice a serului.

S-a constatat că frecvența heterozigoților la englezi și canadieni este de 3,80%, iar cea a homozigoților 1,90%. La portughezi, greci, berberi, germani, aborigenii din Australia, frecvența este similară. La locuitorii din insula Tristan da Cunha, frecvența este mai scăzută.

V. ANEMIA HEMOLITICĂ LA PRIMACHINĂ

Există mai multe medicamente după a căror administrare s-au semnalat anemii hemolitice (tabelul XIX, 1). O anemie hemolitică similară apare la unele persoane care consumă fasolea fava (*Vicia fava*). Cum anemia la primachină este cea mai răspîndită, acest grup de boli poartă denumirea de „anemie hemolitică la primachină”. Tabloul clinic poate fi rezumat astfel: la 2—3 zile de la administrarea medicamentului, urina eliminată este colorată, uneori chiar neagră. În cazuri mai grave apar dureri abdominale și toracice, stare de slăbiciune, icter. În multe hematii apar corpusculii Heinz. Scad numărul de hematii, hematocritul, concentrația hemoglobinei. Această stare durează o săptămîină; urmează remisiunea, chiar dacă se continuă tratamentul. În această etapă apare reticulocitoza. Testul Coombs este negativ, fragilitatea hematiilor la soluțiile hipotone este nemodificată. În afara administrării medicamentelor, bolnavii sînt complet asimptomatici. S-a constatat că hematiile marcate cu

Principalele medicamente care produc anemia hemolitică

Grup	Medicamente
Analgezice	Acetanilida, acidul acetilosalicilic, acetofenetidina (fenacetina), fenazona (antipirina, amidopirina, piramidolul)
Sulfamide și sulfone	Sulfanilamida, sulfapiridina, N ₂ - acetilsulfanilamida, salicilazosulfapiridina, sulfametoxipiridazina
Antimalarice	Primachina, pamachina, mepacrina (atebrina)
Agenți antibacterieni nesulfamidici	Furazolidona, nitrofurantoina (furadantin), cloramfenicol, PAS
Varia	Naftalina, analogii hidrosolubili ai vitaminei K, Probenecid, trinitrotoluen, albastru de metilen, dimercaptopropanol, fenilhidrazina, chinina și chinidina

Cr⁵¹ de la un subiect sensibil la primachină, transfuzate la un subiect normal, supraviețuiesc normal pînă cînd se administrează primachina. În acest moment are loc o hemoliză rapidă. Se lizează numai hematiile de 63—66 de zile, dar nu cele de 8—31 de zile. Se explică astfel de ce hemoliza este de scurtă durată (se distrug la început hematiile mai „bătrîne”; rămîn în viață cele mai „tinere” care sînt mai puțin sensibile).

S-a mai observat că dacă hematiile normale sau cele provenite de la o persoană sensibilă sînt incubate *in vitro* într-un mediu de suspensie care nu conține glucoză, conținutul lor în glutatation redus (GSH) scade.

În prezența glucozei, GSH scade numai la persoanele sensibile. Scăderea GSH este un fenomen secundar inhibiției activității glucozo-6-fosfatdehidrogenazei, enzimă care catalizează transformarea glucozo-6-fosfatului (G-6-P) în acid-6-fosfogluconic. NADPH, rezultat prin oxidarea G-6-P, servește printre altele la reducerea glutatationului oxidat (GSSG) în GSH. Conținutul scăzut în GSH este cauza hemolizei. Din cele spuse pînă în prezent se poate trage concluzia că în anemia hemolitică la primachină defectul metabolic primar îl reprezintă activitatea scăzută a glucozo-6-fosfatdehidrogenazei. În această boală s-au semnalat și alte defecte metabolice ale hematiilor. Scade consumul de oxigen și producția de CO₂, reducerea methemoglobinei în prezența albastrului de metilen, proces legat de NADPH. Raportul NADP/NADPH, raportul NAD/NADH, activitatea GSH-reductazei sînt crescute. După unii autori ar crește și activitatea aldolazei, gliceraldehidfosfatdehidrogenazei și lacticdehidrogenazei. Scade activitatea NADPH-diaforazei, acid fosfomonoesterazei și a pirofosfatazei.

Cercetările biochimice au decelat mai multe variante ale glucozo-6-fosfatdehidrogenazei; s-a constatat de asemenea că între negrii normali și albi nor-

mali nu există diferențe, cu excepția că unii negri au o componentă rapidă din punct de vedere electroforetic, cu funcție normală — componenta A. Negrii homozigoți enzimodeficienți posedă totdeauna componenta A cu stabilitate normală sau ceva mai redusă. Enzima din sângele albilor sensibili are o afinitate ceva mai crescută pentru G-6-P și pentru alt substrat 2-dezoxiglucozo-6-fosfat. Mobilitatea electroforetică este mai mare decât la normali, dar nu este sigur că fracțiunea este identică cu componenta A. S-a mai descoperit tipul Oklahoma I, cu activitate de 3—9% din activitatea normală. Enzima este foarte stabilă. Migrarea electroforetică este normală. Tipul Chicago I se caracterizează printr-o afinitate normală, pH-ul optim normal, dar enzima este foarte labilă. Enzima caracteristică pentru tipul Seattle I are o mobilitate electroforetică scăzută și 8—15% din activitatea enzimatică normală.

Se poate conchide că deficitul enzimatic este consecința modificării structurii moleculare a enzimei.

Nu se cunoaște modalitatea prin care medicamentele relevă deficitul de glucozo-6-fosfatdehidrogenază. În orice caz, medicamentele cu acțiune hemolitică nu au efect decât asupra hematiilor deficiente.

S-a observat că la albi, tabloul simptomatic al bolii este mai grav decât la negri. Albi fac hemoliză la PAS, chinină, chinidină și cloramfenicol, care nu determină simptome de hemoliză la negri.

Transmiterea ereditară se face prin cromozomul X recesiv. La bărbați, frecvența este mai mare, fiindcă gena nu este compensată. La femei, boala apare numai atunci când ambii cromozomi X conțin gena mutantă. Gena este situată pe cromozom între locusul unde este așezată gena pentru gruparea sanguină X_g și cea care condiționează cecitatea la culori. Frecvența de distribuție a genelor mutante este extrem de inegală. În Europa centrală este foarte rară. În Orientul Apropiat și la negrii americani, frecvența este mare, aproximativ 3,5% din populație. Pe întreg globul, aproximativ 100.000.000 de oameni sînt purtători de gene mutante. S-a observat că heterozigoții sînt mai rezistenți la malarie. Frecvența genelor anormale este mai mare în regiunile în care malarie este endemică (Sardinia, unele regiuni din Grecia). Se susține de foarte mulți autori că frecvența mare a genei se datorește tocmai caracterului protector față de malarie.

Există date care arată că anemia hemolitică congenitală nesferocitară s-ar explica printr-un deficit de glucozo-6-fosfatdehidrogenază. În cazuri rare s-a pus în evidență un transfer transplacentar de medicamente hemolitice administrate în timpul gravidității.

VI. HEMOGLOBINA ZÜRICH

La 2 membri dintr-o familie de elvețieni s-a constatat că după administrarea de sulfamide apăreau episoade hemolitice. Acești bolnavi conțin o Hb anormală, care reprezintă 20—30% din cantitatea totală, avînd o mobilitate electroforetică între Hb A și Hb S, rezistență mică la alcalii și nu se oxidează

ușor în methemoglobină. S-a constatat că lanțul B al Hb Zürich este anormal, histidina din poziția 63 fiind înlocuită cu arginină. Schimbarea are urmări importante, întrucât prin histidina 63 se leagă hemul de lanțul B. Transmiterea bolii se face autozomal-dominant.

VII. REZISTENȚA LA ANTICOAGULANTE CUMARINICE

S-a descoperit o familie la care unii membri prezentau o rezistență anormală la cumarina sodică (Warfarin^R). Această rezistență s-ar explica prin existența unei enzime anormal controlată genetic. Transmiterea ereditară se află sub controlul unei gene autozomale dominante sau al uneia legate de cromozomul X.

VII. PORFIRIILE MEDICAMENTOASE

După unii autori, aceste manifestări clinice nu se includ în capitolul tulburărilor farmacogenetice, fiindcă porfiriile există și în lipsa administrării medicamentelor, fiind doar agravate de acestea. S-au descris mai multe clase de medicamente capabile să determine porfirii, ca acetamidele dialchil-substituite, acetilcarbamidele, barbituricele substituite cu o grupare alil, derivații de colidină, griseofulvina. Toate medicamentele amintite stimulează sinteza hepatică a sintetazei acidului β -aminolevulinic, enzimă mitocondrială, care începe lanțul biosintetic al porfirinelor; ea are o importanță capitală, deoarece controlează viteza de reacție. Se formează cantități mai mari de acid β -aminolevulinic și porfobilinogen, care este precursorul monopirolic al porfirinelor. Există și alte medicamente care produc porfirie la om, printr-un mecanism încă neelucidat: sulfamide, clorochină, anticoagulante, tranchilizante, stilbestrol și anticoncepționale administrate *per os*.

CONCLUZII

1. Administrarea unor medicamente poate determina în unele cazuri apariția unor manifestări patologice, având ca bază un deficit metabolic, care se transmite ereditar. În marea majoritate a cazurilor, medicamentele nu fac altceva decât să releve existența acestui deficit metabolic ereditar. În cazuri mai rare, medicamentele agravează o boală preexistentă, prin exagerarea deficitului metabolic ereditar.
2. Medicamentele pot servi ca teste pentru explorarea disfuncțiilor metabolice ereditare.
3. Se impune cu stringență efectuarea unor cercetări de farmacogenetică și la noi în țară. După cunoștințele noastre, aceste investigații s-au făcut până în prezent cu totul sporadic.

ușor în methemoglobină. S-a constatat că lanțul B al Hb Zürich este anormal, histidina din poziția 63 fiind înlocuită cu arginină. Schimbarea are urmări importante, întrucât prin histidina 63 se leagă hemul de lanțul B. Transmiterea bolii se face autozomal-dominant.

VII. REZISTENȚA LA ANTICOAGULANTE CUMARINICE

S-a descoperit o familie la care unii membri prezentau o rezistență anormală la cumarina sodică (Warfarin^R). Această rezistență s-ar explica prin existența unei enzime anormal controlată genetic. Transmiterea ereditară se află sub controlul unei gene autozomale dominante sau al uneia legate de cromozomul X.

VII. PORFIRIILE MEDICAMENTOASE

După unii autori, aceste manifestări clinice nu se includ în capitolul tulburărilor farmacogenetice, fiindcă porfiriile există și în lipsa administrării medicamentelor, fiind doar agravate de acestea. S-au descris mai multe clase de medicamente capabile să determine porfirii, ca acetamidele dialchil-substituite, acetilcarbamidele, barbituricele substituite cu o grupare alil, derivații de colidină, griseofulvina. Toate medicamentele amintite stimulează sinteza hepatică a sintetazei acidului β -aminolevulinic, enzimă mitocondrială, care începe lanțul biosintetic al porfirinelor; ea are o importanță capitală, deoarece controlează viteza de reacție. Se formează cantități mai mari de acid β -aminolevulinic și porfobilinogen, care este precursorul monopirolic al porfirinelor. Există și alte medicamente care produc porfirie la om, printr-un mecanism încă neelucidat: sulfamide, clorochină, anticoagulante, tranchilizante, stilbestrol și anticoncepționale administrate *per os*.

CONCLUZII

1. Administrarea unor medicamente poate determina în unele cazuri apariția unor manifestări patologice, având ca bază un deficit metabolic, care se transmite ereditar. În marea majoritate a cazurilor, medicamentele nu fac altceva decât să releve existența acestui deficit metabolic ereditar. În cazuri mai rare, medicamentele agravează o boală preexistentă, prin exagerarea deficitului metabolic ereditar.
2. Medicamentele pot servi ca teste pentru explorarea disfuncțiilor metabolice ereditare.
3. Se impune cu stringență efectuarea unor cercetări de farmacogenetică și la noi în țară. După cunoștințele noastre, aceste investigații s-au făcut până în prezent cu totul sporadic.

B.777

BIBLIOGRAFIE

1. Beutler Ernest — Glucose-6-phosphate dehidrogenase deficiency, p. 1060—1086, in *The metabolic basis of inherited disease*, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden și D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill Book, New York-Toronto-Sydney-Londra, 1966.
2. Evans D., Price A. — Pharmacogenetics, *Amer. J. Med.*, 1963, 34, 639—662.
3. Lehmann H., Liddell J. — Pseudocholinesterase deficiency and some other pharmacogenetic disorders, in *The metabolic basis of inherited disease*, Ed. Mc. Graw-Hill Book, New York-Toronto-Sydney-Londra, 1966, p. 1356—1369.
4. Peters J. H. — Genetic factors in relation to drugs, *Ann. Rev. Pharmacol.*, 1968, 8, 427—452.
5. Scholz W. — Klinische Bedeutung der Pharmakogenetik, *Dtsch. med. Wschr.*, 1967, 92, 18, 852—856.
6. Wyngaarden J. B., Howell R. P. — Acatlasia, in *The metabolic basis of inherited disease*, Ed. Mc. Graw-Hill Book, New York-Toronto-Sydney-Londra, 1966, p. 1343—1355.

Redactor de carte: Dr. OVIDIU OPRIAN
Tehnoredactor: MARILENA TOMESCU

Bun de tipar: 01.02.1971. Formatul: 16/70X100. Hirtie: tipar
inalt A/56. Coli de tipar: 21.

Tiparul executat de Intreprinderea poligrafică Sibiu
Șoseaua Alba Iulia nr. 40.

